

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1922-1923 — N° 95

SUR LA FORME D'ÉLIMINATION DE L'ACIDE URIQUE

APPLICATION ET DOSAGE DANS LES URINES A SABLE URIQUE

(TRAVAIL DU LABORATOIRE DE CHIMIE)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le Lundi 12 Mars 1923

PAR

Jean-Maurice RANGIER

Licencié ès-Sciences physiques

Pharmacien de 1^{re} Classe

Préparateur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Né à MANSLE (Charente), le 27 Juillet 1892.

Examineurs de la Thèse

{	MM. CHELLE, professeur.....	Président.
	PACHON, professeur.....	Juges.
	MAURIAC, agrégé.....	
	DELAUNAY, agrégé.....	

BORDEAUX

IMPRIMERIE VICTOR CAMBETTE

91, Cours de la Marne, 91

1923

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1922-1923 — N° 95

SUR LA FORME D'ÉLIMINATION DE L'ACIDE URIQUE

APPLICATION ET DOSAGE DANS LES URINES A SABLE URIQUE

(TRAVAIL DU LABORATOIRE DE CHIMIE)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le Lundi 12 Mars 1923

PAR

Jean-Maurice RANGIER

Licencié ès-Sciences physiques

Pharmacien de 1^{re} Classe

Préparateur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Né à MANSLE (Charente), le 27 Juillet 1892.

Examineurs de la Thèse	{	MM. CHELLE, professeur.....	Président.
		PACHON, professeur.....	Juges.
		MAURIAC, agrégé.....	
		DELAUNAY, agrégé.....	

BORDEAUX
IMPRIMERIE VICTOR CAMBETTE

91, Cours de la Marne, 91

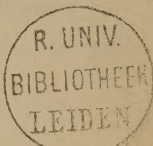
1923

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS..... Doyen.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. LANELONGUE, BADAL, PITRES, GUILLAUD.



PROFESSEURS :

MM.	MM.
Clinique médicale.....	ARNOZAN.
Clinique chirurgicale.....	CASSAËT.
Pathologie et thérapeutique générales.....	CHAVANNAZ.
Clinique d'accouchements.....	VILLAR.
Anatomie pathologique et microscope clinique.....	CRUCHET.
Anatomie.....	RIVIÈRE.
Anatomie générale et histologie.....	SABRAZÈS.
Physiologie.....	PICQUÉ.
Hygiène.....	G. DUBREUIL.
Médecine légale et déontologie.....	PACHON.
Physique biologique et clin. d'électricité médicale.....	AUCHE.
Chimie.....	VERGER.
Botanique et matière médicale.....	BERGONIE.
Pharmacie.....	CHELLE.
	BEILLE.
	DUPOUY.
	Zoologie et parasitologie.....
	Médecine expérimentale.....
	Clinique ophtalmologique.....
	Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....
	Clinique gynécologique.....
	Clinique médicale des maladies des enfants.....
	Chimie biologique et médicale.....
	Physique pharmaceutique.....
	Médec. coloniale et clinique des malad. exotiques.....
	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....
	Clinique des maladies des voies urinaires.....
	Clinique des maladies nerveuses et mentales.....
	Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....
	Toxicologie et hygiène appliquée.....
	Hydrologie thérapeutique et climatologie.....
	MANDOUL.
	FERRÉ.
	LAGRANGE.
	DENUCÉ.
	BÉGOUIN.
	MOUESOUS.
	DENIGÈS.
	SIGALAS.
	LE DANTEC.
	W. DUBREUIL.
	POUSSON.
	ABADIE.
	MOURE.
	BARTHE.
	SELLIER.

MM. PRINCETEAU (Anatomie). — GUYOT (Pathologie externe). — LABAT (Pharmacie).
CARLES (Thérapeutique et Pharmacologie). — PETGES (Vénérologie).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM.	MM.
Anatomie et embryologie.....	N....
Histologie.....	LACOSTE (chargé).
Physiologie.....	DELAUNAY.
Anatomie pathologique.....	MURATET.
Parasitologie et sciences naturelles.....	R. SIGALAS (chargé)
Physique biologique et médicale.....	N....
Chimie biologique et médicale.....	N....
Médecine générale.....	MAURIAC.
	LEURET.
	DUPÉRIÉ.
	Médecine générale.....
	Maladies mentales.....
	Médecine légale.....
	Chirurgie générale.....
	Obstétrique.....
	Ophtalmologie.....
	Pharmacie.....
	CREYX.
	MICHELEAU.
	PERRENS.
	LANDE.
	ROCHER.
	DUVERGEY.
	PAPIN.
	PÉRY.
	FAUGÈRE.
	TEULIÈRES.
	N....

COURS COMPLÉMENTAIRES :

MM.	MM.
Clinique dentaire.....	CAVALIÉ.
Médecine opératoire.....	VENOT.
Accouchements.....	FAUGÈRE.
Ophtalmologie.....	CABANNES.
Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes	ROCHER.
Cours complémentaire annexe. — Prothèse et rééducation professionnelle.....	GOURDON.
	Puériculture.....
	Démonstrations et Préparations pharmaceutiques.....
	Chimie.....
	Pathologie interne.....
	ANDÉRODIE.
	LABAT.
	RANGIER.
	CREYX.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MES CAMARADES MORTS AU CHAMP D'HONNEUR

AUX MIENS, A MES AMIS

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

A MONSIEUR LE PROFESSEUR C. SIGALAS

DOYEN DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
ADJOINT AU MAIRE DE BORDEAUX
CORRESPONDANT NATIONAL DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. DENIGÈS

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE A LA FACULTÉ DE BORDEAUX
CORRESPONDANT NATIONAL DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

*En témoignage de mon admiration
et de ma profonde reconnaissance.*

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE DOCTEUR L. CHELLE

PROFESSEUR DE CHIMIE
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

*Qui a bien voulu me confier l'exé-
cution de ce travail, et ne m'a ménagé
ni ses peines, ni ses conseils ; qu'il soit
bien assuré de mon profond dévouement.*

AVANT-PROPOS

Au début de ce travail nous nous ferons un devoir bien agréable d'adresser nos remerciements les plus sincères à tous ceux dont la bienveillance et l'amabilité ont été souvent un réconfort et un encouragement.

Nous tenons à remercier tout particulièrement :

M^{lle} BÈGUE et M. BASSET, pharmaciens adjoints des hôpitaux, de leur précieuse collaboration.

M. le Professeur agrégé MAURIAC, de l'intérêt qu'il nous a toujours porté.

M. le Professeur LABAT, qui n'a jamais cessé de nous éclairer de ses conseils.

M. le Professeur PACHON, qui a contribué, par son enseignement si clair et si précis, à notre formation et à notre orientation scientifiques.

M. le Professeur BARTHE, qui, pendant la guerre, a été plein de sollicitude pour nous et qui, depuis, a continué encore à nous manifester sa bienveillance en nous offrant le poste de pharmacien adjoint des hôpitaux.

SUR LA FORME D'ÉLIMINATION DE L'ACIDE URIQUE

APPLICATION ET DOSAGE DANS LES URINES A SABLE URIQUE

(Travail du Laboratoire de Chimie)

INTRODUCTION

L'acide urique dans l'urine.

L'urine normale est un milieu fort complexe, qui contient en suspension colloïdale ou en solution aqueuse les produits de désintégration des molécules qui ont rempli leur fonction vitale. Sa constitution n'est pas encore complètement connue ; dans le cas particulier qui nous intéresse, nous la définirons de la façon suivante : l'urine est un milieu essentiellement aqueux, colloïdal et acide, dont l'acide urique est un des constituants. Cet acide urique, qui représente un des termes ultimes de la dégradation des nucléoprotéides dans l'organisme est, soit d'origine exogène s'il provient des nucléoprotéides alimentaires, soit d'origine endogène s'il provient des nucléoprotéides cellulaires.

La quantité d'acide urique contenu dans une urine normale varie avec le régime alimentaire suivi ; c'est ainsi, par exemple, que les aliments riches en nucléoprotéides tels que le riz de veau, le foie, le rein, la viande, augmentent le taux de l'acide urique urinaire, tandis que les ali-

ments pauvres en nucléoprotéides tels que le lait, le pain blanc, la pomme de terre, le riz, les œufs, les salades, diminuent la quantité d'acide urique éliminée. Ce sont là des faits bien connus et d'ailleurs facilement vérifiables. La dose moyenne d'acide urique éliminée par un homme adulte est de 0 gr. 60 par vingt-quatre heures ; elle est environ le $\frac{1}{45}$ ^e de l'urée. Cette quantité représente l'acide urique urinaire, l'élimination de l'acide urique par la sueur pouvant être considérée comme négligeable.

A l'état pathologique, la quantité d'acide urique éliminée subit des variations :

Dans la leucémie, maladie caractérisée par une destruction leucocytaire intense, il y a production d'acide urique endogène en grande quantité et, de ce fait, le taux de l'acide urique urinaire est très élevé ;

Dans un ensemble d'affections dues à l'arthritisme, terme étiologique commode pour exprimer qu'il y a trouble des mutations nutritives et, en particulier, de celles relatives au métabolisme des nucléoprotéides, il y a variation de la quantité d'acide urique éliminée.

En suivant ainsi par son dosage l'acide urique éliminé par les urines, mais sans vouloir préciser sa signification, nous concevons cependant qu'il puisse nous donner des renseignements fort utiles. Ce dosage semblera donc tout indiqué au cours de la goutte, de la gravelle, du rhumatisme chronique par exemple, affections arthritiques bien connues. Un gros intérêt s'attache donc à cette question de l'acide urique urinaire, en particulier à son dosage clinique qui nous permettra de tracer le diagramme correspondant aux affections arthritiques et d'établir ainsi son rapport avec la maladie.

Ce qui nous intéresse donc, c'est d'avoir un procédé de dosage clinique à la fois rapide et exact de l'acide urique dans l'urine.

D'abord, sous quelle forme l'acide urique existe-t-il dans l'urine ? C'est là une notion fondamentale de chimie ana-

lytique qui consiste à rechercher sous quelle forme se trouve un corps que l'on veut doser dans un milieu donné, pour pouvoir le libérer sous une action physique ou chimique, et le doser ensuite en utilisant des réactions qui lui sont propres. Or, sur ce point, les opinions sont variées, les hypothèses assez nombreuses, et les données expérimentales qui devraient leur servir de soutien n'existent pas.

A un point de vue tout à fait général, et sans entrer dans des détails de structure moléculaire, l'acide urique peut exister dans l'urine sous trois états :

1°) A l'état libre, en suspension ou dissous dans le milieu ;

2°) A l'état de sel métallique, l'acide urique étant, comme son nom l'indique, un composé acide ;

3°) A l'état de combinaison organique, associé à un radical ou des radicaux organiques pour donner ainsi un complexe soluble dans l'eau.

Examinons successivement ces trois hypothèses en les étudiant dans leur rapport avec l'expérience.

L'acide urique est-il libre et suspendu dans le milieu aqueux ? Evidemment non, l'acide urique est en effet un cristalloïde et non un colloïde et, comme il existe dans l'urine normale à la dose moyenne de 0 gr. 50 par litre, sa précipitation commencerait en même temps que l'émission. L'acide urique libre est-il dissous dans l'urine ? L'existence d'une telle solution aqueuse ne peut être admise ; l'acide urique est, en effet, pratiquement insoluble dans l'eau. MM. Blarez et Denigès ont fait à ce sujet des expériences concluantes. En appliquant à la détermination de la solubilité de l'acide urique dans l'eau le procédé de dosage par le caméléon, indiqué dans les Comptes-rendus de l'Académie des Sciences (t. civ, p. 789), ils arrivent aux conclusions suivantes :

« Les résultats des nombreuses expériences que nous avons faites à ce sujet peuvent être traduits par une courbe

dont les abscisses représentent les températures et les ordonnées les quantités exprimées en milligrammes d'acide urique dissous dans 100 grammes d'eau.

« La formule d'interpolation que nous en avons déduite

$$x = 2 + 0,15 t + 0,0020 t^2 + 0,000025 t^3$$

répond très rigoureusement aux données expérimentales, ainsi qu'on peut s'en convaincre en comparant les chiffres suivants :

100 grammes d'eau dissolvent d'acide urique

NOMBRES			
Températures	Expérimentaux	Calculés	Différences
0°	2 mgr	2 mgr	0 mgr
10	3,7	3,7	0
20	6	6	0
30	8,8	8,9	+ 0,1
40	12,2	12,8	+ 0,6
50	17	17,6	+ 0,6
60	23	23,6	+ 0,6
70	30,50	30,8	+ 0,3
80	39	39,6	+ 0,6
90	49,8	49,8	+ 0,1
100	62,5	62	+ 0,5

Donc, l'acide urique ne peut pas être libre dans l'urine.

L'acide urique est-il salifié dans l'urine pour donner un sel soluble dans l'eau ? Or, parmi les urates possibles, dans le milieu urinaire riche en ions Na, nous devons considérer en première ligne l'urate neutre de sodium soluble dans l'eau, l'urate acide de sodium étant peu soluble. Cette seconde hypothèse n'est pas encore satisfaisante, car si l'urine est un milieu aqueux, elle est aussi un milieu acide dont l'acidité est due à des phosphates acides et à des acides organiques. Or, les acides précipitent à l'état cristallin l'acide urique d'une solution aqueuse d'urate de soude ; cette précipitation facile s'effectue même avec des acides organiques tels que l'acide acétique. Donc, si l'acide

urique urinaire était à l'état d'urate neutre de sodium, l'urine normale, peu de temps après l'émission, abandonnerait un dépôt caractéristique ocreux d'acide urique et dont la quantité irait en augmentant avec le temps jusqu'à déplacement complet. Nous savons que les urines normales n'ont pas cette propriété ; la sédimentation urique n'a lieu que dans certaines urines que l'on appelle pour cette raison des urines à sable urique, et le processus qui produit cette précipitation est essentiellement pathologique et bien spécial. Nous aurons d'ailleurs l'occasion d'examiner d'un peu plus près ce cas particulier. Il y a plus, on peut ajouter à une urine normale une petite quantité d'acide acétique, sans provoquer pour cela la précipitation de l'acide urique qu'elle renferme.

Il est important de ne pas confondre le précipité d'acide urique des urines à sable urique avec un précipité d'urate acide de sodium associé à d'autres sels urinaires, en particulier à des phosphates, dans une urine normale riche en principes éliminés. L'urate acide de sodium, qui est presque insoluble dans l'eau, résulte d'une double décomposition entre l'acide urique et les phosphates par le refroidissement. Il suffit alors, dans ce dernier cas, de chauffer légèrement ; la réaction inverse se produit et l'urine trouble s'éclaircit.

Nous sommes donc conduits par éliminations successives à envisager notre dernière hypothèse : l'acide urique est combiné à un groupement ou à des groupements organiques inconnus pour constituer ainsi un édifice moléculaire soluble dans le milieu aqueux urinaire. Hypothèse naturellement très vague, mais que nous allons essayer de préciser par des considérations d'ordre expérimental.

Si dans une urine normale, milieu acide, le complexe urique est stable, l'addition d'acide acétique ou d'acide chlorhydrique en certaines proportions dissocie le composé et l'acide urique précipite. Cette action des acides sur l'urine est très anciennement connue et Heintz avait déduit

de cette propriété remarquable un procédé de dosage par précipitation. Ce procédé de dosage, très défectueux et aujourd'hui complètement délaissé, fut bien étudié par Déroïde, en 1891, à Lille, dans sa thèse de doctorat en médecine intitulée : « Contribution à l'étude des procédés de dosage de l'acide urique ». Il signale, dans son travail, quelques points relatifs à la précipitation de l'acide urique par l'acide chlorhydrique qui nous intéressent tout particulièrement. Ce sont les suivants :

1°) La précipitation est longue, en additionnant l'urine d'après le procédé de Heintz de 10 % d'acide chlorhydrique pur et concentré ($D = 1.12$), il faut attendre deux à trois jours pour que la précipitation ait cessé et pour effectuer la pesée ;

2°) La précipitation de l'acide urique est toujours incomplète et il arrive fréquemment que des urines pauvres en acide urique ne fournissent aucun précipité. La quantité d'acide urique qui échappe ainsi au dosage n'est pas négligeable, comme le démontre le tableau suivant :

Numéros d'ordre	200 cent. cubes d'urine contiennent en acide urique		Différence	Filtrat et eaux de lavage	COEFFICIENT à faire intervenir pour 100 cent. cubes
	d'après Salkowski- Ludwig	d'après Heintz			
1	0 ^{gr} 1000	0 ^{gr} 0800	0 ^{gr} 0200	250 ^{cc}	8 mgr
2	0,074	0,0563	0,0177	250	7
3	0,120	0,079	0,0410	250	16,4
4	0,0600	0,0355	0,0245	260	9,4
5	0,0380	Pas de dépôt	»	»	14 (?)
6	0,0780	»	»	»	39 (?)

3°) Enfin, en raison de l'irrégularité de la précipitation, l'erreur ne peut être atténuée par l'intervention d'aucun

coefficient, en particulier par ceux de Zabelin ou de Schwanert.

Or la méthode de Salkowsky-Ludwig, sur laquelle nous reviendrons, est une excellente méthode de dosage de l'acide urique urinaire ; elle a malheureusement l'inconvénient d'être très longue, mais constitue en revanche un bon moyen de contrôle. De plus, Déroïde a pu isoler sous forme d'urate argentique l'acide urique resté en solution, après avoir attendu le temps nécessaire au dosage.

Voici donc trois faits : précipitation longue et toujours incomplète, précipitation irrégulière, qui cadrent fort bien avec notre hypothèse : l'acide urique est uni dans l'urine à un radical organique. En chimie organique, en effet, les réactions de saponification, d'éthérification, d'hydrolyse, etc..., sont le plus souvent longues et incomplètes. Dans le cas particulier de l'acide urique urinaire, nous sommes en présence d'un milieu biologique, par conséquent jamais rigoureusement défini ; variable en ce qui concerne les chiffres de ses constituants, une propriété nouvelle vient caractériser la dissociation du complexe urique : c'est l'irrégularité. Par les propriétés précédentes, la réaction relative à la précipitation d'acide urique sous l'action de l'acide chlorhydrique présente certaines analogies avec une réaction d'hydrolyse. Cette réaction n'est d'ailleurs pas particulière à l'acide chlorhydrique ; elle s'effectue dans des conditions identiques avec l'acide sulfurique, l'acide phosphorique, l'acide acétique, et il semble qu'il y ait autre chose qu'un déplacement avec formation d'un composé insoluble.

Quoiqu'il en soit, cette action de l'acide chlorhydrique sur l'urine par les déductions expérimentales qu'on en tire est bien en accord avec notre hypothèse : l'acide urique est uni dans l'uriné à un radical organique.

D'autre part, si nous considérons le problème de la sédimentation de l'acide urique dans les urines à sable urique, deux points attirent notre attention. L'acidité de l'urine

dans cette précipitation ne semble pas jouer un rôle constant, la plupart des urines à sable n'ont pas une acidité exagérée, au moins consécutivement à la précipitation, et nous avons eu très souvent l'occasion de constater ce fait en apparence paradoxal. De plus, et c'est là un point particulièrement important, nous avons eu aussi très souvent l'occasion de constater que le taux de l'acide urique des urines à sable urique n'excédait pas, dans la majeure partie des cas considérés, celui des urines normales, et était souvent plus faible. Nos dosages ont été effectués sur des urines récemment émises, c'est-à-dire avant que la sédimentation ait eu lieu. Il serait donc logique d'admettre, dans ces urines, l'existence d'une forme spéciale de l'acide urique, une combinaison organique qui le dissout, mais qui, dans ce cas particulier, constitue un édifice moléculaire essentiellement fragile.

En somme, toutes les considérations précédentes nous orientent toutes vers la même direction ; l'acide urique de l'urine n'est pas libre, il est sous une forme organique complexe et dont il serait d'un gros intérêt de connaître la nature.

Les hypothèses relatives à la structure moléculaire du complexe urique manquent de précision ; elles n'ont d'ailleurs reçu aucune vérification expérimentale.

L'acide urique est-il uni à l'urochromogène de l'urine, c'est l'hypothèse de Klemperer, ou encore est-il combiné au colloïde électronégatif trouvé dans l'urine par Iscovesco. Aucune démonstration ne vient confirmer l'une ou l'autre de ces hypothèses. Si, en effet, l'urochromogène et le colloïde électronégatif sont des constituants normaux d'une urine, il n'a jamais été établi que leur union à l'acide urique était possible et que, dans une urine normale, sous une action chimique bien définie, il y avait toujours scission de la molécule hypothétique en quantités proportionnelles d'acide urique d'une part, et d'urochromogène ou de colloïde électronégatif d'autre part. Il serait illusoire de penser

que l'on puisse isoler directement le complexe urique et même, si la chose était possible, pour déterminer sa nature, en raison de l'ordre de grandeur de la molécule hypothétique, il faudrait s'adresser à ses produits de dédoublement et essayer de reconstituer l'édifice moléculaire tout entier avec les fragments obtenus et bien étudiés.

L'acide urique est-il uni à l'acide thyminique ou encore est-il combiné aux acides nucléiniques dont il est d'ailleurs un des produits de désintégration. Le complexe urique qui se rapporte à ces hypothèses respectives n'a jamais été isolé, et si toutefois l'acide thyminique et les acides nucléiniques existent dans l'urine ; ce qui est bien certain, c'est que rien ne montre le rapport qui lie l'acide urique urinaire avec les acides correspondants.

CHAPITRE PREMIER

Une méthode tombée dans l'oubli.

Puisque nous ignorons la forme sous laquelle se trouve l'acide urique urinaire, nous admettrons simplement qu'il est uni à un radical organique inconnu solubilisant ; examinons ses procédés de dosage et cherchons s'il en existe un ou s'il peut en exister un qui soit à la fois clinique et exact. Les procédés de dosage de l'acide urique sont nombreux, mais deux seulement attirent notre attention.

Le premier procédé de dosage qui nous intéresse est celui de Salkowsky-Ludwig modifié, décrit dans le « Précis de chimie analytique » de Denigès. Il repose sur le principe suivant :

Si on ajoute à une urine un mélange de mixture ammoniaco-magnésienne et d'une solution de nitrate d'argent ammoniacal, il se produit un urate double d'argent et de magnésium insoluble.

Dans cette méthode, la précipitation de l'acide urique est totale, donc la dissociation du complexe urique est complète. En traitant le précipité par du sulfure de potassium, il repasse en solution un urate alcalin et, par évaporation de cette dissolution, on obtient après addition d'acide chlorhydrique l'acide urique cristallisé. Cet acide urique, recueilli sur un filtre et soigneusement lavé à l'eau faiblement sulfurique, est dosé par le permanganate N/10.

Le deuxième procédé de dosage qui nous intéresse a été décrit, en 1892, dans une courte publication, par P. Ducung, à cette époque Préparateur de chimie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux. Son titre : « Etude sur le dosage clinique de l'acide urique par l'hyposulfite de cuivre » a attiré notre attention, et ce sont les conclusions expérimentales qu'il renferme qui vont nous servir de base. Ce travail, qui n'a pas été repris, semble aujourd'hui tombé dans l'oubli ; aussi, avons-nous pensé qu'il était indispensable de le reproduire.

ÉTUDE SUR LE DOSAGE CLINIQUE DE L'ACIDE URIQUE PAR L'HYPOSULFITE DE SOUDE ⁽¹⁾

(REPRODUCTION)

Le dosage de l'acide urique est toujours resté, quoi qu'on ait fait, une opération très minutieuse qui ne peut pas, pour ainsi dire, se pratiquer couramment en clinique.

Le procédé par précipitation, en milieu acide, le plus utilisé parmi les nombreuses méthodes indiquées, nécessite vingt-quatre heures au moins de repos, une filtration avec lavage, puis une dessiccation, le tout accompagné de pesées délicates, et enfin il donne parfois de tels écarts avec la méthode de Salkowski et Ludwig, reconnue aujourd'hui encore comme la plus exacte, qu'on tend de plus en plus à le rejeter.

Quant au procédé de Salkowski lui-même, on ne peut songer, vu sa complication, à l'introduire en clinique.

En 1881, Worm Müller (2) songea à utiliser l'insolubilité de l'urate de cuivre pour doser l'acide urique ; il opérait à chaud, en présence d'une liqueur cupro-potassique. Le procédé, assez rapide, manquait toutefois de rigueur.

En 1889, MM. Arthaud et Butte (3), reprenant avec ingé-

(1) Travail du laboratoire de Chimie de la Faculté de Médecine de Bordeaux, fait sous la direction de M. DENIGÈS.

(2) Ueber das Verhalten der Harnsaure zu Kupferoxyd und Alkali. (*Pflüg. Archiv*, Bd XXVII, 1881.)

(3) *Comptes rendus des séances et Mémoires de la Société de Biologie*, 9 novembre 1889.

niosité l'idée de Worm Müller, proposèrent, pour précipiter l'acide urique, une liqueur ainsi composée :

Sulfate de cuivre.....	1 ^{gr} 484
Hyposulfite de soude.....	20
Sel de Seignette.....	40
Eau distillée.....	Q. S.

Pour 1 litre de solution.

Dans la pensée des auteurs, il se formerait, par le mélange de ces diverses substances, de l'hyposulfite cuivreux dont la stabilité serait assurée par l'excès de sel de Seignette.

Le titre de cette liqueur est tel qu'un centimètre cube précipite 1 milligramme d'acide urique.

Citons textuellement le Mémoire original pour le mode opératoire du dosage appliqué à l'urine :

« On précipite d'abord les phosphates à l'aide du carbonate de soude en excès. On filtre et on prélève vingt centimètres cubes sur le liquide obtenu ; on met ces vingt centimètres cubes dans un verre à précipité et on y ajoute goutte à goutte le réactif contenu dans une burette de Mohr. Il se produit, dès la première goutte, un précipité blanc, opalin, floconneux. Lorsqu'on voit qu'on approche de la limite, on jette sur un filtre tout le liquide contenu dans le verre ; on recueille le liquide filtré et on y ajoute une goutte de réactif ; s'il se forme encore un louche, on verse de nouveau sur le filtre et, par des essais successifs, on arrive ainsi à préciser la fin de la réaction.

» Il est bon de s'assurer que la réaction est bien terminée et l'apparition d'une teinte bleue, après addition d'un peu d'ammoniaque et agitation à l'air, montre que la limite est dépassée. »

L'opération, disaient-ils, est simple et rapide ; le procédé est également très sensible, car, dans une solution de 1 milligramme d'acide urique dans cinquante centimètres

cubes d'eau, on aperçoit encore très nettement l'apparition de l'opalescence par addition du réactif.

Ayant eu l'occasion d'essayer le réactif de MM. Arthaud et Butte, au point de vue qualitatif, et ayant trouvé que sa sensibilité n'avait pas été exagérée (on peut, en effet, déceler 2 centigrammes d'acide urique et même moins en solution dans un litre d'eau), il nous a paru surprenant, qu'au point de vue quantitatif, il soit passé inaperçu ; car, en effet, les ouvrages les plus récents n'en font pas mention.

Nous avons pensé tout d'abord que le réactif cuprique pouvait être influencé par certaines substances de l'urine autres que l'acide urique, ou que l'urate de cuivre était moins insoluble dans l'urine que dans l'eau ; nous avons été conduit ainsi à essayer successivement le dosage de l'acide urique par l'hyposulfite de cuivre en présence des principaux éléments de l'urine pris d'abord isolément, puis simultanément.

Dès nos premières recherches, nous avons reconnu que le manuel opératoire de MM. Arthaud et Butte conduisait difficilement au but cherché, par la difficulté qu'il offre de constater la fin de la précipitation totale.

Les auteurs, en effet, apprécient qu'ils ont mis un excès de réactif cuprique dans leur verre d'essai, par addition d'ammoniaque qui doit donner une coloration bleue ; or, s'il est vrai que la solution cuprique, prise en nature et additionnée d'ammoniaque, donne, après agitation prolongée à l'air, une teinte bleue, cette teinte est trop peu marquée pour ne pas être complètement masquée dans l'urine par la couleur propre de ce liquide et par la dilution, même s'il y a un grand excès de réactif et, *a fortiori*, en présence de la petite quantité constituant l'excès à constater.

D'autre part, l'urine traitée par le réactif donne aussi, et sans ammoniaque, une coloration verte, alors même qu'elle contient encore un excès d'acide urique à précipiter.

Pour des raisons que nous exposerons plus loin, il serait

du reste illusoire, pour constater cet excès de liqueur cuprique, de vouloir se servir soit d'ammoniaque, soit même d'un réactif plus sensible, tel que le ferrocyanure de potassium en milieu acétique, par exemple.

Pour tous nos essais, nous avons employé avec avantage comme indicateur une solution alcaline d'acide urique ; quelques gouttes de cette solution, ajoutées à une liqueur contenant des traces d'hyposulfite de cuivre y produisent une opalescence très nette.

D'un autre côté, la liqueur des auteurs n'est pas d'une conservation indéfinie ; sa limpidité s'altère au bout de peu de temps et le titre change assez rapidement pour qu'il y ait avantage à opérer comme on le fait aujourd'hui pour la liqueur de Fehling et conserver d'une part la solution cuprique, d'autre part le mélange d'hyposulfite et de sel de Seignette.

Après une série d'essais comparatifs, nous avons adopté les formules suivantes :

SOLUTION A.

Sulfate de cuivre cristallisé pur.....	2 ^{gr} 98
Dissoudre à froid dans 500 ^{cc} d'eau environ, ajouter :	
Acide sulfurique	} V gouttes mesurées avec un tube effilé.
Eau distillée.....	
Pour avoir 1 litre de solution.	

L'addition d'acide sulfurique assure la conservation indéfinie de cette première liqueur.

SOLUTION B.

Hyposulfite de soude.....	25 ^{gr}
Sel de Seignette	25
Dissoudre à froid dans :	
Eau distillée	Q. S.
Pour avoir 1 litre de solution.	

Le mélange à volumes égaux de ces deux liqueurs qui, isolément, sont inaltérables, précipite 1 milligramme d'acide

urique par centimètre cube et se conserve avec son titre pendant au moins huit jours.

Avant d'entreprendre notre étude du procédé au point de vue clinique, nous avons voulu tout d'abord nous rendre compte de l'exactitude de la méthode de dosage et de sa sensibilité ; nous nous sommes servi, dans ce but, d'une liqueur titrée d'acide urique ainsi constituée :

Acide urique pur et sec.....	1 ^{er} 50
Lessive de soude au $\frac{1}{10}$	20 ^{cc}
Solution saturée à froid de carbonate de soude	20 ^{cc}
Eau distillée.....	Q. S.
Pour avoir 1 litre de solution.	

Diluer l'acide dans environ cinq cents centimètres cubes d'eau, ajouter la lessive de soude ; lorsque la dissolution est complète, verser la solution de carbonate de soude, puis compléter le volume à mille centimètres cubes.

L'addition de carbonate de soude est absolument indispensable ; si l'on verse, en effet, le réactif cuprique dans une liqueur tenant de l'acide urique en dissolution à la faveur de la lessive alcaline seule, on constate que la précipitation n'a pas lieu et qu'elle se produit, au contraire, immédiatement lorsqu'on ajoute un peu de carbonate de soude ; un excès ne nuit pas, mais pour la solution pure d'acide urique, vingt centimètres cubes pour un litre de liqueur suffisent pour assurer la précipitation complète.

C'est cette même solution d'acide urique que nous avons utilisée comme réactif indicateur d'un excès de liqueur cuprique.

Pour opérer la précipitation totale de l'acide urique dans dix centimètres cubes de cette solution, nous avons dû employer exactement quinze centimètres cubes de réactif cuprique et nous avons suivi en tous points le mode opératoire suivant :

Dx centimètres cubes de solution urique versés dans un tube à essais sont additionnés de n centimètres cubes de

liqueur cuprique ; le mélange opéré, la liqueur est portée à 35 ou 40° ; sous l'action de cette faible élévation de température, le précipité se rassemble beaucoup plus rapidement en flocons volumineux. Filtrer et partager le filtratum dans deux tubes à essais bien clairs ; dans le premier tube, verser un centimètre cube de liqueur cuprique ; s'il se produit un précipité, c'est que la liqueur contient encore un excès d'acide urique et que le nombre n de centimètres cubes de précipitant employé n'est pas suffisant ; dans ce cas, l'addition d'un centimètre cube de solution urique dans le second tube ne doit produire aucune précipitation.

Si, au contraire, dans le premier tube, l'addition de réactif cuprique n'altère pas la limpidité, mais qu'un centimètre cube de solution urique versé dans le second tube produise un trouble plus ou moins marqué, c'est que la liqueur contient un excès de réactif cuprique et que le nombre n de centimètres cubes employés est trop considérable.

Dans l'un et l'autre cas, recommencer l'essai en employant un nombre n' de centimètres cubes de liqueur cuprique, plus petit ou plus grand que n , selon que n a été trop fort ou trop faible.

L'on se rapproche ainsi peu à peu de la quantité exacte de précipitant à employer et l'on arrive rapidement à une exactitude absolue, qui sera évidemment obtenue lorsque le filtratum restera limpide dans les deux tubes, après addition séparée des deux réactifs.

En un mot, le procédé est tout à fait comparable à celui du dosage du sulfate de potasse dans les vins par la liqueur chlorhydrique de chlorure de baryum et, en général, à tous ceux qui se font par la méthode dite *des approximations successives*.

Une condition *indispensable*, lorsqu'on se trouve aux limites de la précipitation totale, pour arriver à d'excellents résultats, est de laisser les tubes contenant le filtratum

additionné des réactifs, au repos pendant quatre ou cinq minutes ; dans les liqueurs diluées, en effet, la précipitation est plus lente ; elle s'opère néanmoins toujours et, en prenant la précaution d'attendre pendant quelques instants, on arrive, surtout avec un peu d'habitude, à des conclusions rigoureusement exactes.

Lorsqu'on effectue un essai et que, par approximations successives, on s'est rapproché à environ 5 centigrammes par litre de la dose exacte, l'addition au filtratum, soit d'acide urique pour constater un excès de précipitant, soit inversement de réactif cuprique pour constater un excès d'acide urique non précipité, produit une opalescence immédiate.

Pour une approximation de 2 et surtout de 1 centigramme, le trouble est plus long à se produire et nécessite trois minutes au moins de repos ; au bout de cinq minutes, il est toujours très net. Telle est la limite de sensibilité pour une solution renfermant par litre de 0 gr. 25 à 0 gr. 30 d'acide urique.

Avec les solutions dont la teneur est plus faible, il est nécessaire d'attendre cinq minutes pour une approximation de 5 centigrammes et de huit à dix minutes pour une approximation de 2 et 1 centigrammes.

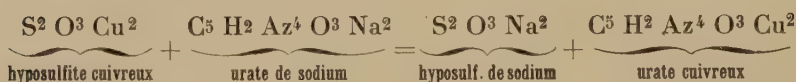
Pour les liqueurs contenant plus de 0 gr. 50 d'acide urique par litre, deux minutes au plus suffisent pour tous les essais.

L'exécution de quelques dosages fixera, beaucoup mieux que nous ne saurions le faire, sur ce point important.

On peut également, au lieu de le chauffer à 35° ou 40°, comme nous l'avons indiqué, laisser le mélange d'acide urique et de réactif précipitant au repos pendant dix minutes avant d'opérer la filtration. Dans ce cas, ce laps de temps est absolument nécessaire pour que la limpidité du filtratum ne s'altère pas d'elle-même par suite d'une précipitation incomplète avant la filtration.

L'aide d'une chaleur modérée permet de filtrer tout de suite et évite ainsi une perte de temps.

Comme on l'a vu, les dix centimètres cubes de solution urique contenant 15 milligrammes d'acide urique ont exigé, pour leur précipitation complète, quinze centimètres cubes de réactif cuprique, soit exactement la quantité théorique correspondant à l'équation :



Un tel dosage nous permettait déjà de conclure à la pureté de l'acide urique employé ; pour plus de certitude et pour mieux contrôler les résultats obtenus, nous y avons dosé l'azote, par la méthode de Will et Warentrapp, en déterminant alcalimétriquement l'ammoniaque fournie par un poids connu d'acide urique sous l'action de la chaux sodée.

ANALYSE DE L'ACIDE URIQUE EMPLOYÉ.

Substance..... 0^{gr}500

Solution sulfurique normale mise dans le tube d'absorption	20 ^{cc}
Solution normale de soude nécessaire pour obtenir la saturation une fois l'opération terminée	8 ^{cc} 45
Proportion d'acide normal saturé par l'ammoniaque.....	41 ^{cc} 85

Ce qui correspond à une teneur en azote de 33,18 %.

La théorie pour la formule $\text{C}^5 \text{H}^4 \text{Az}^4 \text{O}_3$ indique 33,33 % d'azote.

L'accord est donc aussi complet que possible.

**Essais pratiqués sur une solution d'acide urique pure
à des degrés différents de dilution.**

Les essais mentionnés dans le tableau suivant ont été faits avec la solution d'acide urique dont nous avons donné la préparation un peu plus haut et que nous avons successivement étendue à 2/3, 1/2, 1/3, 1/5, 1/10, 1/30 ; seule, la proportion de carbonate de soude est toujours restée constante, soit 2 %.

DOSE D'ACIDE URIQUE par litre	QUANTITÉ DE RÉACTIF employée en cc.	CONSTATÉ APRÈS FILTRATION	TEMPS DE REPOS DU FILTRATUM additionné de réactif
1 ^{er} 50	15,2	Excès de précipitant.	0 minutes.
	15	Exact.	5 —
	14,8	Excès d'acide urique.	0 —
1 ^{er}	10,2	Excès de précipitant.	0 —
	10	Exact.	5 —
	9,8	Excès d'acide urique.	0 —
0 ^{er} 75	7,7	Excès de précipitant.	0 —
	7,5	Exact.	5 —
	7,3	Excès d'acide urique.	0 —
0 ^{er} 50	5,2	Excès de précipitant.	0 —
	5	Exact.	5 —
	4,8	Excès d'acide urique.	0 —
0 ^{er} 30	3,2	Excès de précipitant.	2 —
	3	Exact.	5 —
	2,8	Excès d'acide urique.	2 —
0 ^{er} 15	1,7	Excès de précipitant.	3 —
	1,5	Exact.	5 —
	1,3	Excès d'acide urique.	3 —
0 ^{er} 05	0,7	Excès de précipitant.	5 —
	0,5	Exact.	5 —
	0,3	Excès d'acide urique.	5 —

Comme moyen de contrôle, nous avons essayé de déterminer le titre, inconnu par nous, de trois solutions d'acide

urique qu'on nous avait préparées avec des doses bien déterminées. Nous avons obtenu les résultats suivants :

	QUANTITÉ RÉELLE CONTENUE PAR LITRE	TROUVÉ
1 ^{re} liqueur	0 ^{gr} 350	0 ^{gr} 340
2 ^e liqueur	0 ^{gr} 375	0 ^{gr} 370
3 ^e liqueur	0 ^{gr} 240	0 ^{gr} 240

L'appréciation de la dose d'acide urique que renferme une solution aqueuse, en suivant les indications données, est donc pour ainsi dire absolue.

L'examen du tableau donne la mesure de la sensibilité du procédé ; le dosage est encore rigoureux dans une solution ne renfermant plus que 5 centigrammes par litre d'acide urique.

Influence des éléments minéraux de l'urine.

1° *Phosphates*. — Ce premier point établi, nous avons fait une série de dosages en présence des principaux éléments de l'urine. Parmi les sels minéraux, chlorures, sulfates, phosphates, ces derniers ont, comme on sait, une action dissolvante très marquée sur l'acide urique ; aussi pour étudier s'ils avaient ou non une action perturbatrice sur nos analyses, les dosages, en présence de ces sels, ont été faits avec le plus grand soin et nous avons même cherché, dans ce but, à établir une nouvelle liqueur titrée d'acide urique se rapprochant mieux que la précédente de la constitution d'une urine normale. Nous avons préparé la solution suivante :

Acide urique pur et sec.....	1 ^{gr} 50
Lessive de soude au $\frac{1}{10}$	20 ^{cc}
Acide phosphorique étendu.....	Q. S.
pour neutraliser la soude employée et avoir du phosphate disodique.	
Solution saturée à froid de carbonate de soude	20 ^{cc}
Eau distillée.....	Q. S.
pour avoir 1 litre de solution.	

Cette liqueur, examinée comme nous l'avions fait précédemment pour la simple solution alcaline d'acide urique, nous ayant fourni, avec ou sans dilution, des résultats absolument identiques, nous avons essayé d'aller plus loin et d'augmenter la proportion de phosphate disodique; c'est ainsi que, pour tous les essais rapportés dans le tableau suivant, nous avons opéré en présence de 20 grammes de phosphate disodique par litre, quel qu'ait été le degré de dilution pour l'acide urique.

*Dosages effectués en présence de 20 grammes
de phosphate disodique par litre.*

DOSE D'ACIDE URIQUE par litre	QUANTITÉ DE RÉACTIF employée, en cc.	CONSTATÉ APRÈS FILTRATION
1 ^{er} 50	15,2	Excès de précipitant.
	15	Exact.
	14,8	Excès d'acide urique.
1 ^{er}	10,2	Excès de précipitant.
	10	Exact.
	9,8	Excès d'acide urique.
0 ^{er} 75	7,7	Excès de précipitant.
	7,5	Exact.
	7,3	Excès d'acide urique.
0 ^{er} 50	5,2	Excès de précipitant.
	5	Exact.
	4,8	Excès d'acide urique.
0 ^{er} 30	3,2	Excès de précipitant.
	3	Exact.
	2,8	Excès d'acide urique.
0 ^{er} 15	1,7	Excès de précipitant.
	1,5	Exact.
	1,3	Excès d'acide urique.
0 ^{er} 05	0,7	Excès de précipitant.
	0,5	Exact.
	0,3	Excès d'acide urique.

2° *Sulfates et chlorures.* — Nous avons établi deux séries parallèles d'expériences en présence de sulfates et de chlorures.

Pour les sulfates, nous avons opéré sur une liqueur contenant 20 grammes par litre de sulfates de soude et de potasse à parties égales et, pour les chlorures, en présence de 25 gr. de chlorure de sodium. Les chiffres obtenus ont été en tout point semblables à ceux donnés à propos des phosphates, aucune perturbation n'ayant été observée par l'addition à la solution d'acide urique de doses considérables des sels minéraux indiqués.

Nous en avons conclu que les éléments minéraux de l'urine ne pouvaient, en aucun cas, fausser les résultats, puisqu'on ne les rencontre jamais à de telles doses dans ce liquide.

3° *Carbonate d'ammoniaque.* — Le carbonate d'ammoniaque n'est pas un élément normal de l'urine, mais il s'y montre dès que ce liquide a subi la fermentation ammoniacale, aussi avons-nous cru devoir étudier l'action de ce principe sur nos dosages. Or, opérant en présence de 5 gr. par litre et diminuant progressivement la proportion d'acide urique, nous avons dû toujours employer la quantité théorique de réactif cuprique et, lorsque nous avons opéré comparativement sur des urines ayant subi la fermentation ammoniacale, nous avons constaté la même netteté et la même sensibilité dans les dernières approximations conduisant au dosage exact.

Influence des éléments organiques de l'urine.

Nous avons fait également une série de dosages en présence des principaux éléments organiques, normaux ou pathologiques, de l'urine.

Urée, glucose. — L'urée ni la glucose ne font pas varier les résultats, comme on peut le voir par les chiffres du tableau comparatif donné par l'urée ; les chiffres obtenus

dans les dosages en présence de glucose sont absolument identiques.

Acide lactique. — Il en est de même pour l'acide lactique qu'on trouve dans certaines urines diabétiques.

Avec la glucose, les dosages ont été faits en présence de 100 grammes de glucose par litre.

La proportion d'urée ou de glucose est restée constante, la dilution ne portant jamais que sur l'acide urique.

Nous avons employé de la glucose extraite de l'urine de diabétique et purifiée par plusieurs cristallisations dans l'alcool méthylique.

Albumine. — Pour l'étude du procédé dans le cas des urines albumineuses, nous avons fait une série de dosages comparatifs en opérant d'abord sur l'urine prise en nature, puis sur la même urine débarrassée de son albumine par filtration après coagulation par la chaleur au bain-marie à 100°, en présence d'acide acétique.

1^{re} urine, contenant 6 gr. 90 d'albumine par litre :

Acide urique avant coagulation = 0^{gr}58.

Après coagulation = 0^{gr}60.

Différence = 0^{gr}02.

2^e urine, contenant 6 gr. 15 d'albumine par litre :

Acide urique avant coagulation = 0^{gr}47.

Après coagulation = 0^{gr}49.

Différence = 0^{gr}02.

3^e urine, contenant 2 gr. 50 d'albumine par litre :

Acide urique avant coagulation = 0^{gr}16.

Après coagulation = 0^{gr}17.

Différence = 0^{gr}01.

4^e urine, contenant 2 gr. 20 d'albumine par litre :

Acide urique avant coagulation = 0^{gr}29.

Après coagulation = 0^{gr}30.

Différence = 0^{gr}01.

5^e urine, contenant 1 gr. 90 d'albumine par litre :

Acide urique avant coagulation = 0^{gr}23.

Après coagulation = 0^{gr}24.

Différence = 0^{gr}01.

Les chiffres ont toujours été plus forts pour l'urine débarrassée d'albumine ; toutefois, la différence n'étant au maximum que de 2 centigrammes par litre, pour le cas particulier de l'urine renfermant 6 gr. 90 d'albumine, elle peut être considérée comme très faible ; elle s'explique d'ailleurs par ce fait que le dosage après coagulation s'opère sur une liqueur plus concentrée, la diminution de volume provenant de l'albumine disparue et de l'évaporation d'une certaine quantité de liquide lors de la coagulation au bain-marie. Du reste, nous avons retrouvé des chiffres absolument concordants pour les deux opérations, chaque fois qu'avant de faire le dosage sur l'urine débarrassée de l'albumine, nous avons pris la précaution de parfaire le volume primitif après refroidissement.

En résumé, l'albumine, en elle-même, n'est pour rien dans les faibles différences obtenues et l'on peut, à discrétion, doser l'acide urique avant ou après coagulation, sauf, dans ce dernier cas, à ramener le filtratum au volume primitif, pour les dosages de grande exactitude.

Dosages effectués en présence de 50 grammes d'urée par litre.

DOSE D'ACIDE URIQUE par litre.	QUANTITÉ DE RÉACTIF employée, en c. c.	CONSTATÉ APRÈS FILTRATION	TEMPS DE REPOS DU FILTRATUM additionné de réactif
1 gr 50	15,2	Excès de précipitant.	0 minutes.
	15	Exact.	5 —
	14,8	Excès d'acide urique.	0 —
1 gr	10,2	Excès de précipitant.	0 —
	10	Exact.	5 —
	9,8	Excès d'acide urique.	0 —
0 gr 75	7,7	Excès de précipitant.	0 —
	7,5	Exact.	5 —
	7,3	Excès d'acide urique.	0 —
0 gr 50	5,2	Excès de précipitant.	0 —
	5	Exact.	5 —
	4,8	Excès d'acide urique.	0 —
0 gr 30	3,2	Excès de précipitant.	2 —
	3	Exact.	5 —
	2,8	Excès d'acide urique.	2 —
0 gr 15	1,7	Excès de précipitant.	3 —
	1,5	Exact.	5 —
	1,3	Excès d'acide urique.	3 —
0 gr 05	0,7	Excès de précipitant.	5 —
	0,5	Exact.	5 —
	0,3	Excès d'acide urique.	5 —

Il est cependant avantageux d'opérer le dosage après coagulation, les urines albumineuses offrant souvent cette particularité qu'elles se clarifient difficilement par la filtration seule ; ce n'est alors qu'après une série parfois longue de filtrations qu'on obtient, après traitement par la solution cuprique, une liqueur assez limpide pour constater par addition du réactif approprié un excès d'acide urique ou de réactif précipitant.

Acide hippurique. — En traitant par l'hyposulfite de cuivre une solution d'acide hippurique à 2 grammes par litre, nous n'avons observé qu'une très légère teinte verte.

Tyrosine. — La tyrosine, en solution alcaline, à la dose de 2 grammes par litre, traitée directement par le réactif cuprique, donne une coloration bleue se produisant au bout de quatre ou cinq minutes à froid, instantanément à chaud.

Leucine. — La leucine, dans les mêmes conditions, donne cette même coloration bien que beaucoup plus atténuée.

En présence d'acide urique, ces trois solutions ne manifestent d'ailleurs leur action colorante sur le réactif qu'après précipitation de l'acide urique.

Créatine et créatinine. — La créatine et la créatinine, à la dose de 5 grammes par litre, ne donnent aucune réaction, ni précipité, ni coloration.

Xanthine et hypoxanthine. — Ces deux substances, dont la constitution se rapproche cependant beaucoup de celle de l'acide urique, ne fournissent non plus aucune réaction.

Matières colorantes de l'urine. — L'urochrome et l'urobiline extraits des urines par les méthodes classiques et ajoutés à l'état de pureté à une solution d'acide urique sont sans action perturbatrice sur les dosages par l'hyposulfite de cuivre.

Enfin, pour le dosage de l'acide urique exécuté en présence de ces dernières substances : tyrosine, leucine, créatine, créatinine, xanthine, hypoxanthine, acide hippurique,

urochrome, urobiline, prises séparément, la quantité théorique de réactif précipitant a toujours été strictement nécessaire : elles n'ont donc aucune influence sur le dosage.

Pour clore cette série d'essais, nous avons opéré un dernier dosage d'acide urique, en présence de tous les éléments réunis dont nous avons successivement étudié l'action ; nous avons ainsi fait une urine artificielle ayant la composition suivante par mille centimètres cubes :

Acide urique.....	1 ^{gr} »
Urée	30 ^{gr} »
Phosphate disodique	4 ^{gr} »
Sulfate de potasse.....	2 ^{gr} »
Chlorure de calcium.....	0 ^{gr} 50
Chlorure de magnésium	0 ^{gr} 50
Chlorure de sodium	16 ^{gr} 50
Créatine.....	0 ^{gr} 50
Créatinine	0 ^{gr} 50
Acide hippurique.....	0 ^{gr} 50
Urochrome et urobiline.....	{ Q. S. pour donner une coloration jaune intense à l'urine.

L'acidité totale de cette liqueur, prise à la phtaléine sur cent centimètres cubes, donne les résultats suivants :

Cent centimètres cubes d'urine artificielle exigent, pour leur saturation, trente-huit centimètres cubes de soude normale décime, soit une acidité normale.

L'acide urique a été dissous à la faveur de vingt centimètres cubes de lessive de soude au 1/10^e ; la solution ainsi obtenue a été additionnée d'une quantité double d'acide phosphorique de celle exactement nécessaire pour neutraliser la lessive de soude employée ; les autres éléments, dissous séparément, ont été ensuite mélangés à la solution urique.

Cette urine artificielle, d'une limpidité parfaite, s'est très bien prêtée à l'analyse. Nous avons fait le dosage sur trois échantillons de chacun dix centimètres cubes auxquels nous avons ajouté : à l'un, 10^{cc}2 de réactif ; au second, 9^{cc}8 et, au dernier, 10^{cc}.

URINE ARTIFICIELLE	QUANTITÉ DE RÉACTIF EMPLOYÉE	CONSTATÉ
10 ^{cc}	10 ^{cc} 2	Excès de réactif.
10 ^{cc}	9 ^{cc} 8	Excès d'acide urique
10 ^{cc}	10 ^{cc}	Exact.

Nous retrouvons donc notre proportion théorique d'acide urique : 10 milligrammes précipités dans dix centimètres cubes de solution par dix centimètres cubes de réactif,

$$\text{soit : } \frac{1000}{1000}$$

Nous avons contrôlé ce résultat en dosant l'acide urique dans cette même urine artificielle par le procédé de Salkowski et Ludwig et par précipitation directe par l'acide chlorhydrique.

Par la méthode de Salkowski et Ludwig, nous avons trouvé une quantité d'acide urique égale à 0 gr. 988 par litre,

$$\text{soit : } \frac{988}{1000}$$

Le procédé de dosage par précipitation au moyen de l'acide chlorhydrique donne un écart notable, car il ne nous a permis de retrouver que 0 gr. 935 d'acide urique,

$$\text{soit : } \frac{935}{1000}$$

Application du procédé de dosage à l'urine.

Après cette série d'expériences nombreuses, comprenant plus de 100 analyses, dans lesquelles nous avons cru envisager tous les cas possibles et dont la dernière nous paraissait tout à fait concluante, nous pensions que l'application

à l'urine du procédé de dosage indiqué était bien justifiée et nous nous apprêtions à confirmer simplement, en les appuyant de toutes nos expériences, les affirmations de MM. Arthaud et Butte, lorsqu'un fait bien inattendu et qui avait absolument échappé à ces auteurs est venu modifier complètement notre opinion, en nous montrant que les méthodes synthétiques sont souvent fort imparfaites quand il s'agit de constituer de toutes pièces les liquides de l'organisme.

Lorsqu'on traite, en effet, une urine quelconque par l'hyposulfite de cuivre, en suivant les prescriptions que nous avons établies pour le dosage des solutions aqueuses d'acide urique, le précipité d'urate cuivreux se produit très facilement et la détermination de l'acide urique est aussi aisée, en apparence, qu'en solution aqueuse ; si l'on vient toutefois à recueillir le précipité d'urate cuivreux formé et à déterminer la proportion d'acide urique qu'il renferme, ou encore si l'on effectue le dosage de l'acide urique dans l'urine mise en expérience, par le procédé de Ludwig, on trouve que les deux dernières méthodes donnent des chiffres très concordants, mais toujours moins élevés que ceux fournis par les approximations successives, ainsi qu'il résulte du tableau suivant donnant les résultats de 19 analyses comparatives.

Si, au premier abord, ces chiffres paraissent n'offrir que des écarts sans aucun terme de comparaison, un examen plus attentif permet d'établir que si les différences données par la méthode volumétrique et celle de Ludwig ne sont pas constantes en quantité absolue, elles sont cependant mathématiquement proportionnelles et qu'en tenant compte des erreurs d'analyse possibles, les chiffres obtenus par le procédé de Ludwig se confondent toujours avec les $\frac{2}{3}$ du nombre donné par la méthode volumétrique.

NUMÉRO D'ORDRE DES URINES	DOSAGE par la méthode volumétrique	DOSAGE par le PROCÉDÉ LUDWIG	DIFFÉRENCE
1	0,78	0,53	0,25
2	1,55	1,07	0,48
3	0,76	0,51	0,25
4	0,24	0,13	0,11
5	0,48	0,33	0,15
6	0,49	0,32	0,17
7	0,45	0,29	0,16
8	0,97	0,63	0,34
9	1,07	0,70	0,37
10	0,84	0,55	0,29
11	0,40	0,26	0,14
12	0,56	0,38	0,18
13	0,51	0,34	0,17
14	0,46	0,29	0,17
15	1,11	0,74	0,37
16	0,58	0,39	0,19
17	0,45	0,31	0,14
18	0,86	0,56	0,30
19	0,70	0,47	0,23

Nous avons obtenu des résultats identiques chaque fois que nous avons exécuté des dosages comparatifs dans l'urine par ces deux méthodes. Ce fait, nettement établi par l'expérience, nous semble absolument constant ; il nous permet donc de rendre applicable à l'urine une méthode qui, jusqu'à cette heure, ne fournissait que des résultats erronés. Il est toutefois plus difficile d'en donner une explication précise, car le phénomène est tout à fait indépendant des principes de l'urine isolés jusqu'ici et dont nous avons successivement étudié l'action sur le dosage.

Nous avons pensé tout d'abord que la majoration donnée par la méthode volumétrique pouvait être produite par une substance inconnue qui, de même que l'acide urique, précipite le réactif cuprique ; or, si après avoir éliminé d'une urine les phosphates alcalino-terreux, au moyen du

carbonate de soude et de la filtration, on recueille le précipité fourni par un excès d'hyposulfite de cuivre, on trouve

NUMÉROS D'ORDRE DES URINES	CHIFFRES CALCULÉS EN MULTIPLIANT PAR $\frac{2}{3}$ ceux donnés par la méthode volumétrique	CHIFFRES DONNÉS par la MÉTHODE DE LUDWIG
1	0,52	0,53
2	1,03	1,07
3	0,50	0,51
4	0,16	0,13
5	0,32	0,33
6	0,32	0,32
7	0,30	0,29
8	0,64	0,63
9	0,71	0,70
10	0,56	0,55
11	0,26	0,26
12	0,37	0,38
13	0,34	0,34
14	0,30	0,29
15	0,74	0,74
16	0,39	0,39
17	0,30	0,31
18	0,57	0,56
19	0,46	0,47

que ce précipité est uniquement composé d'urate cuivreux, ainsi que l'indique le dosage séparé du cuivre et de l'acide urique contenu dans le précipité.

	CALCULÉ POUR $C^5 H^2 Az^4 O^3 Cu^2$	TROUVÉ
Acide urique.....	0gr336	0gr340
Cuivre.....	0gr254	0gr251
Urate cuivreux.....	0gr586	0gr587

Il n'y a donc pas de cuivre fixé sous une autre forme insoluble que celle d'urate cuivreux, et la première hypothèse doit être rejetée.

Nous avons pensé alors que cette augmentation pouvait être due à la présence dans l'urine d'une substance se

combinant avec le cuivre, mais sous une forme de combinaison soluble sur laquelle l'acide urique serait sans action dans les conditions où l'on opère.

Cette façon d'envisager les faits a du moins l'avantage d'être conforme aux résultats fournis par l'expérience et, d'ailleurs, il nous paraît difficile d'imaginer une autre hypothèse.

Lorsqu'on dose, en effet, l'acide urique dans une urine par la méthode des approximations successives, le filtratum obtenu après traitement de l'urine par la liqueur cuprique, acidulé par l'acide acétique et additionné de quelques gouttes de ferrocyanure de potassium, donne toujours d'abord une coloration rouge très nette, puis, par le repos, un précipité floconneux de ferrocyanure de cuivre, et cela alors même que la quantité de réactif cuprique ajoutée à l'urine n'est pas suffisante pour y précipiter tout l'acide urique.

Cette coloration rouge et ce précipité indiquent donc la solubilisation d'une partie du cuivre, fait que l'on n'observe jamais, dans les mêmes conditions, avec les solutions aqueuses d'acide urique ni même avec les urines artificielles.

Lorsque après avoir traité un volume déterminé d'urine par la quantité de réactif cuprique strictement nécessaire pour obtenir la précipitation totale et séparé l'urate cuivreux formé par filtration, nous avons dosé le cuivre passé dans le filtratum, nous en avons toujours trouvé une dose correspondant au tiers de la quantité contenue dans le volume de réactif employé.

Ainsi que nous l'avons déjà mentionné plus haut, la recherche du cuivre dans le filtratum pour apprécier la fin de la réaction ne peut donc conduire qu'à des résultats erronés. Nous avons obtenu une coloration rouge encore très nette en traitant par le ferrocyanure de potassium en milieu acétique le filtratum provenant de dix centimètres cubes contenant 0 gr. 67 d'acide urique par litre et qui,

avant filtration, n'avaient été additionnés que de 0 cc. 5 de réactif cuprique, soit moins de $1/10^e$ de la quantité nécessaire pour obtenir la précipitation totale de l'acide urique contenu dans les dix centimètres cubes d'urine mis en expérience.

En un mot, la constatation de la présence du cuivre dans le filtratum ne prouve nullement que tout l'acide urique est précipité.

Il nous a paru que tous les faits précédents s'expliquaient fort bien en admettant que l'urine renferme une substance formant avec le cuivre une combinaison soluble qui ne peut être précipitée par l'acide urique.

Si l'acide urique pouvait, en effet, par double décomposition, se substituer à ce principe pour former de l'urate cuivreux, la combinaison soluble ne pourrait se former qu'autant que la liqueur contiendrait un excès de réactif cuprique et le cuivre ne pourrait être décelé qu'après la précipitation totale de l'acide urique, ce qui n'est pas ; d'autre part, une solution alcaline d'acide urique ne pourrait servir, comme nous l'avons établi, pour indiquer la fin de la réaction, puisque l'addition de cette liqueur dans le liquide à essayer amènerait toujours fatalement la formation d'un précipité, due à la présence dans le liquide de cette combinaison soluble, pouvant donner lieu à une double décomposition, fait que nous n'avons jamais observé.

Nous ne pouvons envisager cette substance solubilisante que de deux façons : ou elle existe préformée dans l'urine, ou bien elle ne prend naissance qu'au fur et à mesure que l'acide urique passe à l'état d'urate cuivreux.

Dans le premier cas, si la substance existe préformée, comment admettre qu'elle soit toujours rigoureusement proportionnelle aux deux tiers de l'acide urique vis-à-vis du réactif cuprique ?

Si nous admettons le fait, malgré tout ce qu'il présente d'étrange, lors de l'addition à l'urine du réactif cuprique,

la combinaison soluble du cuivre devrait s'opérer la première et l'on ne devrait constater l'apparition de l'opalescence dans la liqueur qu'au moment précis où cette substance solubilisante serait saturée, soit lorsqu'on aurait employé le tiers du volume de liqueur titrée nécessaire pour la précipitation totale ; or, l'expérience démontre que la première goutte de liqueur cuprique versée dans une urine préalablement alcalinisée par le carbonate de soude et filtrée, y produit un précipité très net et que, d'autre part, le cuivre peut se retrouver dans le filtratum, si minime que soit la quantité de réactif cuprique employée.

Cette première hypothèse n'est donc pas admissible.

Quant à la seconde, d'après laquelle le principe solubilisant n'agirait que proportionnellement à la quantité d'acide urique précipité, c'est la seule qui nous permette de donner une explication concordant avec nos expériences.

En effet, tout se passe comme si, dans l'urine, l'acide urique ne se trouvait ni à l'état d'acide urique libre, ni à l'état de combinaison alcaline ou phosphatique, mais en combinaison organique sous forme d'uréide complexe. Le dédoublement de cette uréide donnerait, en présence de l'hyposulfite cuivreux, deux équivalents d'acide urique précipitable et un équivalent de substance solubilisante.

Nous avons, à l'appui de cette manière de voir, fait l'expérience suivante :

L'acide urique contenu dans cent centimètres cubes a été précipité au moyen de deux centimètres cubes d'acide chlorhydrique ; après filtration, nous avons dosé la quantité d'acide urique retenue sur le filtre et nous en avons retrouvé une dose sensiblement égale aux deux tiers de celle accusée par un premier essai volumétrique fait sur l'urine prise en nature.

S'il est vrai que l'acide urique se trouve dans l'urine à l'état d'uréide complexe, l'acide chlorhydrique doit détruire cette combinaison tout comme l'hyposulfite de cuivre,

puisque, dans le premier cas, il y a précipitation d'acide urique et, dans le second, d'urate cuivreux ; par suite, nous devons retrouver dans le filtratum, en plus de la petite quantité d'acide urique restée en dissolution, la totalité de la substance solubilisante. Cette prévision a été confirmée par un essai qualitatif.

Lorsque, en effet, nous avons voulu procéder au dosage de l'acide urique retenu dans le filtratum, après l'avoir additionné d'un volume de soude caustique correspondant à l'acide chlorhydrique employé pour la précipitation et alcalinisé par le carbonate de soude, puis clarifié par une nouvelle filtration, nous avons dû, avant de voir apparaître une opalescence dans la liqueur, verser dans notre tube d'essai un volume de réactif cuprique bien supérieur à celui qui détermine toujours un trouble très accentué dans une urine alcalinisée ordinaire. Un dixième de centimètre cube de réactif cuprique suffit, en effet, pour produire une opalescence nette dans toute urine additionnée de carbonate de soude et filtrée, et nous en avons employé 1 cc. 5, c'est-à-dire quinze fois plus.

Une substance particulière solubilise donc ici les premières portions du cuivre et si elle est la première qui entre en combinaison avec le réactif cuprique, cela tient évidemment à ce que, dans ce cas particulier, elle a été préalablement mise en liberté par l'acide chlorhydrique.

Nous nous proposons d'examiner plus tard, à l'aide d'expériences plus précises d'ailleurs déjà commencées, cette conception nouvelle de l'état de l'acide urique dans l'urine, bornant le présent travail à l'étude complète d'un procédé pratique pour le dosage de l'acide urique.

Le fait nettement établi qui ressort de tout ce qui précède est que pour tout dosage dans l'urine, c'est un *tiers en trop* de réactif cuprique que l'on est obligé d'employer avant d'obtenir la précipitation complète.

Il suffit, par suite, pour éviter toute correction de chiffres au moment du dosage et conserver tous les avantages d'une

solution titrée à lecture directe, d'augmenter d'un tiers la proportion de sulfate de cuivre et de préparer les deux solutions suivantes :

SOLUTION A.

Sulfate de cuivre cristallisé pur...	4 ^{gr} 47.
Acide sulfurique.....	V gouttes.
Eau distillée.....	Q. S. pour 1000 ^{cc}

SOLUTION B.

Hyposulfite de soude	45 grammes.
Sel de Seignette.....	45 —
Eau distillée	Q. S. pour 1000 ^{cc}

Le mélange à volumes égaux de ces deux liqueurs précipite *dans l'urine* 1 milligramme d'acide urique par centimètre cube et se conserve pendant huit jours au moins.

Le manuel opératoire à suivre pour les dosages cliniques de l'acide urique ne diffère nullement de celui que nous avons indiqué pour les solutions aqueuses. Il suffit, avant de procéder au dosage, de débarrasser l'urine des phosphates alcalino-terreux, en la traitant par un dixième de son volume d'une solution saturée de carbonate de soude ; filtrer et doser ensuite sur onze centimètres cubes de filtratum. Chaque dixième de centimètre cube de réactif cuprique employé correspondra à 1 centigramme d'acide urique par litre de l'urine examinée.

L'on peut aussi, plus commodément dans la pratique, verser directement le réactif dans l'urine non débarrassée au préalable des phosphates alcalino-terreux ; le précipité d'urate cuivreux ne se forme pas alors immédiatement, il n'apparaît que lorsqu'on ajoute au mélange quelques gouttes de la solution de carbonate de soude. Dans ce cas, le précipité obtenu n'est plus uniquement constitué par de l'urate de cuivre ; il contient en plus les phosphates et, par suite, est plus volumineux. Dix gouttes de carbonate de soude suffisent toujours pour dix centimètres cubes d'urine ; un excès ne nuit pas.

Lorsque l'urine a été au préalable débarrassée des phosphates alcalino-terreux, elle peut, à la rigueur, servir elle-même de réactif indicateur pour constater un excès de liqueur cuprique dans le filtratum; mais si certaines urines conviennent pour cet usage, d'autres ne peuvent être employées, à cause de leur teneur trop faible en acide urique, aussi est-il préférable de se servir de solutions alcalines d'acide urique.

Les solutions alcalines pures se conservent plus longtemps que celles qui sont additionnées de carbonate de soude; il y a tout avantage à les utiliser de préférence à ces dernières et à les préparer dans les proportions suivantes :

Acide urique..... 0^{gr}10 environ;

diluer dans cinquante centimètres cubes d'eau.

Ajouter :

Lessive de soude au $\frac{1}{10}$... 2^{cc};

puis compléter le volume à cent centimètres cubes environ.

La solution s'opère parfaitement. Il est le plus souvent inutile de la filtrer et elle se conserve pendant une dizaine de jours, alors que les solutions additionnées de carbonate de soude laissent déposer l'acide urique au bout de quarante-huit heures.

Prenons comme exemple l'exécution du dosage dans une urine renfermant 0 gr. 65 d'acide urique par litre.

Prélever dix centimètres cubes d'urine avec une pipette jaugée, verser dans un tube à essais, ajouter dix gouttes de solution saturée de carbonate de soude, puis cinq centimètres cubes de liqueur cuprique. Chauffer légèrement vers 40° et filtrer. Séparer le filtratum en deux parties dans deux tubes à essais bien clairs; dans le premier tube, ajouter un centimètre cube de liqueur urique; dans le second, un centimètre cube de réactif cuprique. La quantité (5 cc.) de solution cuprique ajoutée dans ce cas ne sera

pas suffisante et il se produira immédiatement un trouble dans le tube où, après filtration, on aura versé pour l'essai un centimètre cube de liqueur cuprique; ce trouble indique qu'il faut employer une quantité de réactif plus considérable.

Recommencer alors la même opération en employant une quantité plus forte de liqueur cuprique, huit centimètres cubes par exemple. Dans l'un des tubes contenant le filtratum, ajouter de nouveau un centimètre cube de réactif; dans l'autre, un centimètre cube de liqueur urique. Dans ce nouveau cas, la quantité (8 cc.) de solution cuprique est trop grande et l'apparition d'un trouble immédiat dans le tube où l'on aura versé un centimètre cube de liqueur urique indiquera un excès de précipitant.

Par ces deux premières expériences, l'on sait que la quantité d'acide urique contenue dans l'urine examinée est comprise entre 0 gr. 50 et 0 gr. 80; de même, deux nouveaux essais, faits en employant six et sept centimètres cubes de réactif cuprique, indiqueront aussi nettement que précédemment que cette quantité est limitée entre 0 gr. 60 et 0 gr. 70.

A ce moment, et pour le cas particulier qui nous occupe, un dernier essai, fait en employant 6 cc. 5 de précipitant, prouvera que l'on est arrivé au terme exact par la limpidité qui persistera dans les deux tubes contenant le filtratum, malgré l'addition dans chacun de l'un des réactifs indicateurs.

Une dernière recommandation importante que nous avons déjà faite, mais sur laquelle nous ne saurions trop insister, est de ne jamais trop se hâter de conclure. Au fur et à mesure que l'on approche du terme exact, l'apparition de l'opalescence, après addition des réactifs indicateurs, est plus lente à se produire, et aux dernières limites, c'est-à-dire lorsqu'on est à une approximation de 3, 4 ou 5 centigrammes par litre en plus ou en moins, il faut, pour obtenir

de bons résultats, attendre pendant cinq minutes avant de constater l'opalescence.

Enfin, et surtout pour les derniers essais, l'intensité du trouble obtenu après addition, soit de liqueur cuprique, soit de solution urique, dans le filtratum, permet de déterminer très approximativement la quantité de précipitant à employer pour la dernière opération.

CHAPITRE II

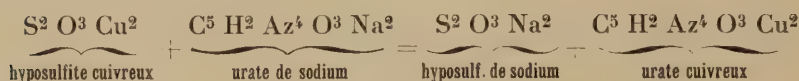
Vérification du procédé de Ducung.

La méthode de vérification qui s'impose est celle qui consiste à effectuer, sur une série d'urines, le dosage de l'acide urique par le procédé de Ducung et par celui de Ludwig et à comparer ainsi les résultats obtenus. Avant de faire cette série d'expériences et pour nous mettre la technique de Ducung en main, nous avons repris ses premiers dosages de la solution aqueuse d'urate de soude avec la solution d'hyposulfite de cuivre dont la solution A contient 2 gr. 98 de sulfate de cuivre par litre.

Dans ce but, nous avons effectué par la méthode des approximations successives une dizaine de dosages, d'abord avec la solution d'acide urique à 1 gr. 50 par litre, puis avec des solutions obtenues en diluant la solution précédente dans des rapports connus. Nous avons été surpris de la sensibilité de cette méthode ; si, en effet, dans les premiers dosages, l'erreur que nous avons commise était de l'ordre de deux centigrammes environ, elle s'est atténuée dans les expériences suivantes pour devenir pratiquement nulle, c'est-à-dire inférieure au centigramme.

Or, si cette méthode est applicable à l'urine et si la sensibilité reste la même, elle sera largement suffisante ; nous pouvons fort bien, en clinique, accepter un dosage entâché d'une erreur de deux à trois centigrammes, *a fortiori* les chiffres correspondant à des milligrammes d'acide urique par litre d'urine n'auraient-ils pour nous aucune signification.

Signalons une erreur commise par Ducung, page 26, en écrivant la réaction :



Ce n'est pas, en effet, de l'urate dicuivreux $\text{C}^5 \text{H}^2 \text{Az}^4 \text{O}^3 \text{Cu}^2$ qui prend naissance, c'est de l'urate monocuivreux



comme nous le démontrerons.

Si nous examinons le tableau de la page 27 et si nous calculons la quantité de cuivre qui se combine à 1 gr. 50 d'acide urique pour donner de l'urate dicuivreux, nous trouvons :

$$\text{Cu} = 1,50 \times \frac{127}{168} = 1^{\text{gr}}134$$

Si maintenant nous calculons la quantité de cuivre qui se combine à 1 gr. 50 d'acide urique pour donner de l'urate monocuivreux, nous trouvons :

$$\text{Cu} = 1,50 \times \frac{63,5}{168} = 0^{\text{gr}}5669$$

Or, Ducung emploie 1 cc. 5 de solution d'hyposulfite de cuivre pour saturer exactement 10 cc. d'urine, soit 150 cc. pour un litre d'urine, cette quantité correspond à :

$$150 \times 0,000378 = 0^{\text{gr}}567$$

Dans cette expression, 0 gr. 000378 représentent la quantité de cuivre déterminée par le calcul, contenue dans un centimètre cube de liqueur cuivreuse.

Les deux chiffres, 0 gr. 567 et 0 gr. 5669, sont parfaitement comparables : c'est donc bien de l'urate monocuivreux qui prend naissance dans les conditions de l'expérience.

Nous devons donc écrire l'équation de la façon suivante :



Cette réaction est d'ailleurs bien connue et on sait, depuis longtemps, que l'hyposulfite de cuivre réagit sur les solutions d'acide urique en précipitant de l'urate monocuivreux. Cette erreur de Ducung n'a pas eu de conséquence dans la suite de son travail, puisque la quantité de cuivre contenue dans la solution obtenue en mélangeant à parties égales les solutions A et B est précisément celle qui correspond à l'équation précédente.

Nous avons effectué sur dix urines les dosages suivants :

1° Le dosage de l'acide urique par la méthode de Sal-kowski-Ludwig modifiée ;

2° Le dosage de l'acide urique par la méthode de Ducung (à l'aide de la solution à lecture directe ⁽¹⁾) ;

3° Le dosage de l'acide urique et des corps Xantho-uriques par la méthode Haycraft-Denigès.

Les résultats obtenus, auxquels nous avons joint quelques dosages d'autres éléments, sont représentés dans le tableau suivant :

(Voir le tableau pages 50-51 suivantes.)

(1)

SOLUTION A.

Sulfate de cuivre cristallisé pur.....	4 gr 47.
Acide sulfurique.....	V gouttes.
Eau distillée.....	Q. S. pour 1.000 cc

SOLUTION B.

Hyposulfite de soude.....	45 gr
Sel de Seignette.....	45 gr
Eau distillée.....	Q. S. pour 1.000 cc

Le réactif se prépare en mélangeant à parties égales la solution A et solution B.

NUMÉROS D'ORDRE DES URINES	1	2	3
<i>Résultats exprimés en grammes par litre</i>			
Acide urique : Procédé Ludwig	0,48	0,58	0,68
Acide urique : Procédé de Ducung.....	0,50	0,55	0,60
Acide urique et corps Xantho-uriques.... Procédé Haycraft-Denigès	0,60	0,90	0,95
Densité à + 15°	1017	1028	1030
Urée	12,0	31,9	7,5
Phosphates (en P ² O ⁵)	1,4	2,8	0,5
Chlorures (en Nacl).....	12,4	15,1	16,5
Indican.....	Normal	Léger excès	Normal
Anormaux : Albumine.....	0,04	0	0

4	5	6	7	8	9	10
0,52	0,16	0,27	0,80	0,05	0,30	0,20
0,50	0,18	0,25	0,80	0,05	0,40	0,35
0,90	0,35	0,63	1,68	0,14	0,69	0,46
0,11	1021	1022	1021	1018	1023	1024
9,5	9,00	8,5	25,8	11,0	24,5	26,4
0,85	1,0	1,2	1,7	1,4	2,6	3,0
4,5	10,5	18,2	5,3	12,2	13,3	9,9
Normal	Normal	Normal	Léger excès	Normal	Normal	Normal
1,2	1,8	0	0,50	0	0	0
de 1500cc peracide u : 23±05 res : 8,60 cellules héiliales. ématis. lindres yalins.			Urobiline en grande quantité. Cellules épithéliales. Phosphate ammoniac- magnésien.		Dépôt de sable urique. Assez nombreux cristaux d'oxalate de chaux.	Dépôt de sable urique.

Si nous examinons les résultats obtenus, nous remarquons que le dosage de l'acide urique par la méthode de Ducung concorde dans des limites cliniquement acceptables avec celle de Ludwig, puisque l'écart maximum observé entre les deux méthodes est de trois centigrammes. Une exception doit être faite cependant avec les urines 9 et 10 à sable urique : le chiffre donné par le procédé de Ducung est notablement plus élevé que celui qui est fourni par le procédé de Ludwig. Dans un chapitre suivant, nous expliquerons ces différences et nous montrerons les déductions que nous en avons tiré.

Mais pour avoir une liqueur cuivreuse à lecture directe en opérant sur une solution aqueuse d'acide urique, il faudrait employer la liqueur primitive de Ducung (1) renfermant 0 gr. 5688 de cuivre, c'est-à-dire 1,5 fois plus forte.

Si donc l'acide urique urinaire a agi sur le réactif cuivreux comme le fait une solution d'urate neutre de sodium et conformément à l'équation que nous avons écrite précédemment, les résultats du tableau devront être multipliés par le coefficient 1,5.

Les chiffres que nous obtiendrons nous permettront peut-être de voir s'il existe un rapport entre l'acide urique et le bloc acide urique + corps Xantho-uriques exprimé en acide urique.

(1) Renfermant parties $\left\{ \begin{array}{l} \text{So}^4 \text{ Cu } 2^{\text{gr}}98 \text{ et de solution B} \\ \text{égales de solution A} \end{array} \right. \left\{ \begin{array}{l} \text{Eau q. s. p.} \dots\dots\dots 1.000 \\ \text{Hyposulfite} \dots\dots 25\text{g} \\ \text{Sel de Seignette } 25\text{g} \\ \text{Eau q. s. p.} \dots\dots 1000 \end{array} \right.$

Un litre de cette solution contient 1^{gr}49 de $\text{So}^4 \text{ Cu}$ ce qui représente en $\text{Cu} = \frac{63,5 \times 1,49}{249,5} = 0^{\text{gr}}378$. Un cent. cube de cette solution contenant 0^{gr}000378 de Cu représente la quantité de ce métal exigée par un milligramme d'acide urique pour donner $\text{C}^5 \text{ H}^3 \text{ N}^4 \text{ O}^3 \text{ Cu}^1$ (car $\frac{\text{Cu}}{\text{acide urique}} = \frac{63,5}{168} = 0,378$)

Ces calculs montrent qu'en prenant 10 cc. d'une solution d'acide urique (à l'état d'urate de soude) il faut pour obtenir une réaction positive de Ducung U cc. de réactif ; ces 10 cc. contiennent U milligrammes d'acide urique et un litre U décigrammes.

S'il en est ainsi, les corps Xantho-uriques agiront sur le réactif en fixant $\frac{1}{3}$ du cuivre, les deux autres tiers étant fixés par l'acide urique. En représentant les résultats de la façon suivante :

NUMÉROS D'ORDRE DES URINES	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Acide urique et corps Xantho-uriques exprimés en acide urique	0,60	0,90	0,75	0,90	0,35	0,63	1,68	0,14	0,69	0,46
Acide urique du pro- cédé Ducung $\times 1,5$. . .	0,75	0,82	0,75	0,75	0,27	0,37	1,20	0,07	0,60	0,37

La lecture de ce tableau nous montre que les corps Xantho-uriques n'ont aucune action sur le réactif cuivreux.

Conclusion :

La méthode de Ducung est exacte ; vu sa simplicité, elle doit être remise en honneur, car elle est rapide et clinique.

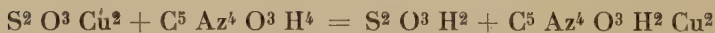
CHAPITRE III

L'acide urique existe dans l'urine sous forme d'uréide complexe.

Pour expliquer cette action de l'acide urique urinaire sur l'hyposulfite cuivreux, Ducung a émis l'hypothèse suivante :

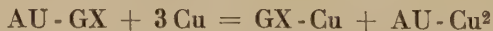
« L'acide urique existe dans l'urine sous forme d'uréide complexe qui, sous l'action de l'hyposulfite cuivreux en milieu rendu alcalin par le carbonate de soude, se dédouble en urate cuivreux qui précipite les 2/3 du cuivre qui entre en jeu dans la réaction ; la quantité restante, 1/3, est solubilisée dans l'urine par un radical organique inconnu. »

Si nous reprenons son égalité :

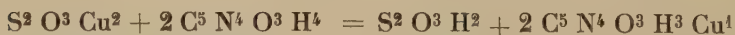


il semblerait que cet uréide hypothétique ne soit constitué que par une seule molécule d'acide urique.

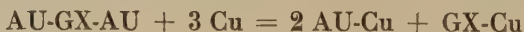
En désignant par AU l'acide urique, et par GX le groupement moléculaire inconnu auquel il est combiné, nous aurions dans ces conditions :



Ceci ne peut pas être, puisqu'en réalité la réaction est la suivante :

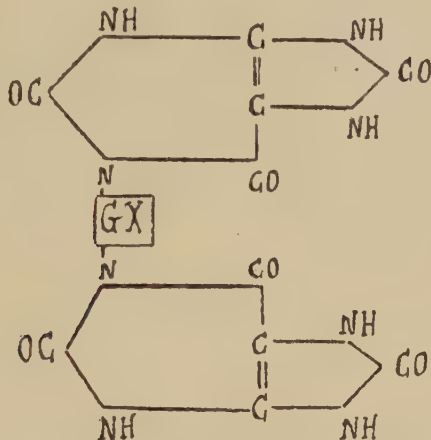


La dissociation de l'uréide doit donc se schématiser :

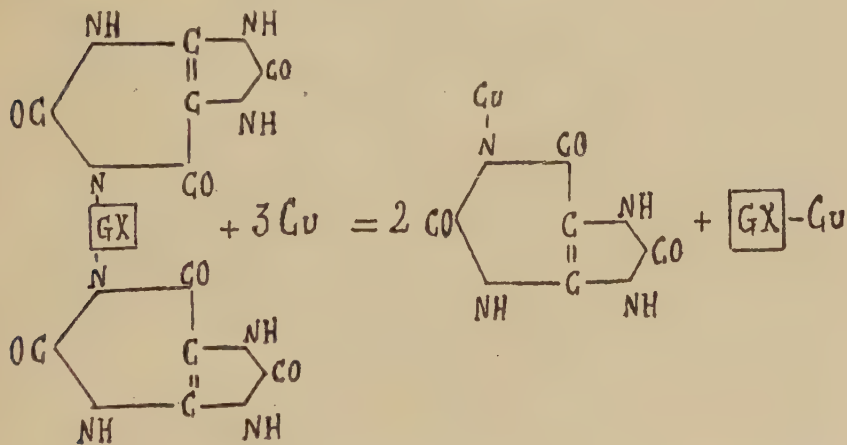


« Il faut bien, a dit Claude Bernard, se garder de proscrire l'usage des idées et des hypothèses. »

C'est pourquoi cet uréide complexe pourrait peut-être répondre à la formule suivante :



Lequel, par hydrolyse ou sous l'action des réducteurs, donnerait en présence du cuivre :



Dans ce qui va suivre, pour simplifier, nous désignerons le bloc GX par le mot « Copule », et nous dirons : dans l'urine l'acide urique est éliminé sous une forme complexe, copulée. Cette copule aurait pour but la solubilisation.

Reprenons la liqueur primitive de Ducung à lecture directe (1) : nous voyons qu'une solution d'urate de soude renfermant par litre U décigrammes d'acide urique exige U cc. de solution cuivreuse (1).

Au contraire des expériences de Ducung et des nôtres, il découle que l'acide urique urinaire se comporte d'une façon toute différente vis-à-vis de la solution cuivreuse.

Si, pour une urine donnée, on trouve par le procédé de Ludwig U grammes d'acide urique, par le procédé de Ducung on ne trouve plus U, mais un nombre A présentant la particularité suivante :

$$A = U + \frac{U}{2} \quad (2)$$

$\frac{U}{2}$ correspond à ce que nous avons désigné « copule ».

Voyons ce qui se passera si nous provoquons dans cette urine une précipitation partielle d'acide urique, c'est-à-dire examinons si la précipitation entraînera la partie de la copule qui lui est propre ou bien si cette copule restera en solution dans l'urine, continuant encore à emprunter pour son propre compte du cuivre à la solution cuivreuse.

Supposons donc qu'on acidifie l'urine par HCl et désignons par u la quantité d'acide urique qui sera précipité. Il restera en solution U-u d'acide urique.

Dosons dans cette urine l'acide urique par le procédé de Ludwig, nous devons trouver U-u d'acide urique (3).

Dosons maintenant l'acide urique par le procédé de Ducung. Si la précipitation de u a entraîné avec elle la destruction de la copule qui lui est propre, nous devons trouver un chiffre répondant à l'égalité :

$$\left(U-u + \frac{U-u}{2} \right) = \frac{3(U-u)}{2} \quad (4)$$

(1) Voir page 22.

(2) Voir les tableaux précédents.

Si, au contraire, la précipitation de u a laissé intacte la partie de la copule qui lui est propre, nous devons trouver un chiffre donné par l'égalité :

$$\left(U - u + \frac{U - u}{2} \right) + \frac{u}{2} = \frac{3 U - 2 u}{2} \quad (5)$$

Le problème étant ainsi posé, nous avons pris une urine et nous y avons dosé l'acide urique par les procédés de Ludwig et Ducung. Les résultats ont été les suivants, confirmant les égalités (1) et (2) :

$$\text{Ludwig } 0,50 = U$$

$$\text{Ducung } 0,75 = U + \frac{U}{2} \quad 0,75 = 0,50 + \frac{0,50}{2}$$

Puis nous avons fait les expériences suivantes :

Expérience N° 1.

Un litre de cette urine primitive a été additionné de 10 cc. d'HCl et, après vingt-quatre heures de contact, nous avons filtré, recueilli sur un creuset de Gooch le précipité formé qui représentait donc u, lequel était égal à 0 gr. 30.

Sur cette urine, nous avons dosé l'acide urique par le procédé Ludwig et nous avons trouvé 0 gr. 20, résultat concordant avec l'égalité (3)

$$U - u \text{ donne, en effet, } 0,50 - 0,30 = 0,20.$$

Le dosage par le procédé Ducung nous a donné 0,43.

Etant donné que nous connaissons $U = 0,50 - u = 0,30$, voyons le chiffre qui serait donné par les égalités (4) ou (5).

L'égalité (4) nous donne :

$$\frac{3 (U - u)}{2} = \frac{3 (0,50 - 0,30)}{2} = 0,30$$

L'égalité (5) nous donne :

$$\frac{3 U - 2 u}{2} = \frac{3 \times 0,50 - 2 \times 0,30}{2} = 0,45$$

Le chiffre calculé de 0,45 concorde sensiblement aux erreurs d'expérience près avec celui trouvé 0,43.

Expérience N° 2.

Un litre d'urine primitive a été additionné de 10 cc. d'HCl, après quarante-huit heures de repos, on a filtré pour recueillir l'acide urique, lequel, après lavage et séchage à l'étuve, nous a fourni $u = 0$ gr. 40.

Un dosage par le procédé Ludwig dans le filtratum a donné 0 gr. 08. Si on calcule d'après la formule $U-u$, on aurait : $0,50 - 0,40 = 0,10$.

Le dosage par le procédé Ducung correspond à 0,33.

Etant donné les valeurs U et u , appliquons les formules (4) et (5) et nous trouverons :

$$(4) \quad \frac{3(U-u)}{2} = \frac{3(0,50-0,40)}{2} = 0,15$$

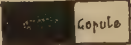
$$(5) \quad \frac{3U-2u}{2} = \frac{3 \times 0,50 - 2 \times 0,40}{2} = \frac{1,50-0,80}{2} = 0,35$$

Nous résumons dans le tableau suivant toutes ces expériences :

Une urine donne à l'analyse	{	Par le Ludwig U d'acide urique par litre.	0,50	Calculé par la formule 0,75			
		Par le Ducung $U + \frac{U}{2}$	0,75				
			PREMIÈRE EXPÉRIENCE		DEUXIÈME EXPÉRIENCE		
			u = 0,32		u = 0,41		
			Trouvé	Calculé par la formule	Trouvé	Calculé par la formule	
			Ludwig U-u	0,20	0,18	0,08	0,09
La même urine traitée par Hcl donne un précipité u d'acide urique et il reste en solution U - u d'acide urique. Elle donne analysée par le procédé :	{	si la copule a été enlevée					
		ou $\left(\frac{U-u + U-u}{2} \right)$					
		ou $\frac{3 U-u}{2}$	0,45	0,30	0,33	0,15	
		Ducung					
		Si la copule est restée					
		$\left(\frac{U-u + U-u}{2} \right) + \frac{u}{2}$	<u>0,45</u>	<u>0,45</u>	<u>0,33</u>	<u>0,35</u>	
		ou $\frac{3 U-2 u}{2}$					

Ces expériences nous montrent donc que la précipitation de u d'acide urique n'a pas entraîné de modification à la partie de la copule naissante qui lui était propre et qui, primitivement, maintenait u en solution.

Elles peuvent se schématiser de la façon suivante :

Urine au début	Précipitation l'acide		partielle de urique	
	Après 24 heures		Après 48 heures	
Le procédé de Ludwig dose l'acide urique seul				
Le procédé de Ducung dose le bloc acide urique + copule				

Les différences observées dans le chapitre précédent au sujet des urines 9 et 10 sont expliquées :

	URINE 9	URINE 10
Acide urique : Procédé Ludwig...	0,30	0,25
Acide urique : Procédé Ducung...	0,40	0,35

Il s'agit d'urines à sable urique, c'est-à-dire dans lesquelles une partie de l'acide urique qu'elles contenaient s'était décopulée.

Nous croyons pouvoir tirer les conclusions suivantes :

1° La solubilité de l'acide urique dans l'urine est due à ce que ce produit existe sous forme d'uréide complexe ;

2° Si la décopulation se produit, l'acide urique s'insolubilise. Cas des urines à sable urique ou à des urates acides ;

3° Jamais cette décopulation n'est complète sous l'action des acides, ce qui explique les erreurs du procédé de Heintz

où il reste toujours dans l'urine de l'acide urique solubilisé en quantité variable ;

4° Sous l'action d'un réducteur comme l'hyposulfite cuivreux, cette décopulation est toujours complète ;

5° Même après précipitation de l'acide urique dans une urine, la copule reste intacte et active sur le cuivre de l'hyposulfite cuivreux.

CHAPITRE IV

Urines dans lesquelles l'uréide complexe est en partie dissocié.

Cas des urines à sable urique.

Nous venons de démontrer que lorsque cet uréide complexe se dissociait, on plutôt lorsque l'acide urique se décopulait, il s'en suivait une précipitation partielle d'acide urique, mais que cette copule hypothétique agissait toujours sur le cuivre du réactif cuivreux.

Ce que nous désignons jusqu'ici par U du procédé Ducung, n'est autre chose que des centimètres cubes de solution cuivreuse que nous traduisons en décigrammes. Envisageons maintenant comment se répartit le cuivre contenu dans ces U centimètres cubes de solution.

Désignons par Cu^T le cuivre total introduit dans l'urine pour avoir une réaction positive, une précipitation exacte de l'acide urique ; par Cu^{in} le cuivre fixé à l'état d'urate cuivreux insoluble resté sur le filtre, par Cu^s le cuivre fixé par la copule sous forme soluble.

L'égalité précédente

$$A = U + \frac{U}{2}$$

devient

$$(5) \quad \text{Cu}^T = \text{Cu}^{\text{in}} + \text{Cu}^s$$

Dans une urine normale, $\text{Cu}^{\text{in}} = 2 \text{ Cu}^s$, c'est-à-dire que sur trois parties de Cu introduit, deux sont fixées à l'état d'urate cuivreux, une fixée par la copule.

Sachant que $\text{Cu} \times 2,645 = \text{acide urique}$, on aura :

$$(6) \quad \text{Acide urique} = \text{Cu}^{\text{in}} \times 2,645$$

ou bien :

$$(7) \quad \text{Acide urique} = 2 \text{ Cu}^{\text{s}} \times 2,645$$

Que se passe-t-il après précipitation partielle de l'acide urique ? Il faudra ajouter à cette urine une quantité A' de réactif cuivreux dont le Cu se répartira toujours en cuivre insolubilisé à l'état d'urate cuivreux $\text{Cu}^{\text{in'}}$ qui aura varié et cuivre solubilisé qui sera toujours le même Cu^{s} puisque la copule reste intacte.

L'égalité (5) devient :

$$\text{Cu}^{\text{T'}} = \text{Cu}^{\text{in'}} + \text{Cu}^{\text{s}}$$

Si donc dans la solution nous pouvons déterminer Cu^{s} , nous connaissons la quantité d'acide urique que contenait une urine avant la décopulation, ou plutôt avant l'hydrolyse de l'urée.

Pour vérifier ces faits, nous avons préféré doser $\text{Cu}^{\text{in'}}$. Étant donné que l'on connaît $\text{Cu}^{\text{T'}}$ déterminé par le volume de la liqueur cuivreuse introduite, Cu^{s} sera donné par la différence :

$$\text{Cu}^{\text{T'}} - \text{Cu}^{\text{in'}}$$

Ce dosage de $\text{Cu}^{\text{in'}}$ revient donc au dosage de l'acide urique après précipitation de ce dernier à l'état d'urate cuivreux.

Nous savons qu'il existe un procédé dit manganométrique qui consiste à recueillir l'urate cuivreux, le laver, puis le mettre en suspension dans de l'acide sulfurique et ensuite doser l'acide urique par le permanganate de potasse.

S'il faut n cc. de cette solution, on dit :

$$\text{Acide urique} = n \times 0,0074$$

nous aurions donc :

$$\text{Cu}^{\text{in}} = \frac{n \times 0,0074}{2,645}$$

Mais le dosage manganimétrique donne toujours des chiffres un peu élevés, c'est pourquoi nous conseillons de ne jamais employer cette méthode. Celle qui donne le meilleur résultat consiste à doser le cuivre par cyanoargentimétrie. Elle n'est qu'une modification du procédé de Denigès : dosage volumétrique de l'acide urique (*Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 1896, page 75), méthode qui se trouve décrite et jugée comme très exacte dans le rapport présenté par Vicario, au 2^e Congrès international de chimie.

L'auteur opérait ainsi :

Mettre dans un verre à expérience 120 cc. d'urine et 10 cc. de solution de CO^3Na^2 à 160 grammes par litre. Agiter et filtrer sur un filtre à plis pour éliminer les phosphates alcalino-terreux. Ajouter, à 100 cc. du filtrat, un mélange fait à part, de 40 cc. de solution H (1) et de 10 cc. de solution C (2). Au bout de dix minutes de contact, décanter ce que l'on pourra du liquide surnageant le précipité, puis filtrer sur un petit filtre plat disposé sur un bon entonnoir à succion, ou même filtrer à l'aide de la trompe après avoir doublé le filtre d'une rondelle de tarlatane ou de soie à tamis. On s'assurera que le filtrat ne précipite plus par une petite quantité de H et de C.

Quand la filtration est complète, laver trois ou quatre fois au moins avec une pissette à orifice étroit, en ayant soin de détacher avec le jet le précipité étalé sur le filtre en une couche gélatineuse continue pour le ramener, grumeleux, à la pointe du filtre ; laisser chaque fois égoutter le précipité. Laver une dernière fois à l'eau froide ou

-
- | | |
|---|-------------|
| (1) Solution H : Hyposulfite de soude cristallisé..... | 100 gr. |
| Sel de Seignette..... | 100 gr. |
| Eau distillée q. s. pour..... | 1 litre. |
| (2) Solution C : Sulfate de cuivre cristallisé pur..... | 40 gr. |
| Acide sulfurique..... | 10 gouttes. |
| Eau distillée q. s. pour..... | 1 litre. |

chaude, à volonté (dans le cas des urines diabétiques, on lavera jusqu'à disparition du sucre).

Le filtre, enlevé de l'entonnoir, est étalé ouvert sur la paroi d'une capsule de porcelaine et, avec une pissette d'eau bouillante, on fait tomber le précipité dans la capsule ; on y ajoute de 1/2 à 1 et 1/2 cc. de HCl et goutte à goutte Br O Na ou de l'eau bromée, jusqu'à dissolution complète de l'urate cuivreux et coloration jaune ou vert jaunâtre persistante du liquide.

On s'arrange pour que le volume total de la solution ne dépasse pas 40 cc. ; on fait bouillir, on ajoute 10 cc. d'ammoniaque et, l'ébullition étant rétablie vive et continue, on verse goutte à goutte une solution de Cy K équivalente à une liqueur N/10 d'azotate d'argent, par conséquent de même titre que la solution B du dosage des corps Xanthuriques. Lorsque la teinte bleue de la solution cupro-ammoniacale est très affaiblie, l'ébullition étant maintenue constante et vive, on ne verse les gouttes de cyanure que toutes les trois ou quatre secondes, et cela jusqu'à disparition complète de la teinte bleue.

En exprimant par q la proportion (en centimètres cubes) de solution cyanurée nécessaire pour arriver à ce résultat, on a, pour la valeur de la quantité x d'acide urique contenue dans un litre d'eau :

$$x = (q - 0,1) \text{ centigrammes} \times 11$$

Lorsque M. Denigès a décrit cette méthode, il n'avait pas encore donné son procédé de dosage cyano-argentimétrique du cuivre, qui n'a paru qu'en 1895 (1). C'est pourquoi nous avons modifié la première technique, ainsi :

Technique. — 100 cc. d'urine sont additionnés de 10 cc. $\text{CO}^3 \text{Na}^2$ saturé, puis de la quantité nécessaire de réactif cuivreux de Ducung donnée par la méthode des approxi-

(1) DENIGÈS. — *Annales de Chimie et de Physique*, t. VI, 7^e série.

mations successives (on connaît donc Cu^{T}). On laisse déposer dix minutes, puis pour éviter les filtrations et les lavages qui sont longs, on centrifuge et on décante. Le culot est lavé à trois ou quatre reprises avec de l'eau distillée.

Cet urate cuivreux constitué par le culot est transvasé dans un vase d'Erlenmeyer de 500 cc. environ, on y ajoute 100 cc. d'eau et 10 cc. de $\text{SO}^4 \text{H}^2$ au demi. On attend un quart d'heure environ pour que le cuivre soit transformé en sulfate cuivrique, ou bien l'on chauffe pour activer la réaction. On ajoute alors de l'ammoniaque, quantité juste (1) nécessaire pour neutraliser les 10 cc. de $\text{SO}^4 \text{H}^2$ au demi, puis 15 cc. d'ammoniaque. On verse 10 cc. de $\text{Cy K N}/10$, quelques gouttes d'iodure de potassium à 10 %, puis l'azotate d'argent $\text{N}/10$ jusqu'à opalescence. Soit n cc. employés.

On aura :

$$\text{Cu}^{\text{in}'} = (10 - n) \times 0,004$$

$$\text{et acide urique} = \text{Cu}^{\text{in}'} \times 2,645$$

La différence :

$$\text{Cu}^{\text{T}'} - \text{Cu}^{\text{in}'} \text{ donnera donc } \text{Cu}^{\text{s}}$$

Ceci étant établi, voici les expériences que nous avons pratiqué.

Expérience N° 1. — Sur une urine A.

- 1° Le dosage de l'acide urique par le procédé Ludwig ;
- 2° Le dosage de l'acide urique par le procédé Ducung (qui fixe sur Cu^{T}) ;
- 3° Le dosage cyanoargentimétrique de l'acide urique et du cuivre (Cu^{in}).

(1) C'est-à-dire si pour neutraliser 10 cc. de $\text{SO}^4 \text{H}^2$ 1 il faut 12 cc. d'ammoniaque, on ajoute $12 + 15 = 27$ cc. $\frac{2}{2}$

Expérience N° 2.

Cette urine A a été additionnée du 1/10^e de son volume de $\text{CO}^3 \text{Na}^2$ saturé, puis filtrée (ceci avait pour but de nous assurer que l'introduction d'un excès de $\text{CO}^3 \text{Na}^2$ et la précipitation préalable des phosphates ne gênait pas nos dosages, car nous verrons plus loin que nous avons eu besoin de ce réactif alcalin pour neutraliser nos urines) et, sur le filtrat, nous avons refait les dosages.

Voici nos résultats :

	EXPÉRIENCE N° 1 urine directe	EXPÉRIENCE N° 2 Après traitement par $\text{CO}^3 \text{Na}^2$
Procédé Ludwig.....	0,53	0,54
Cyanoargentimétrie:..	0,53	0,529
Ducung.....	0,53	0,55

Voyons comment s'est réparti le cuivre total introduit, nous avons :

Expérience N° 1.

$$\text{Cu}^T = 530 \times 0,0005688 = 0,30146$$

$$\text{Cu}^{\text{in}} = \dots\dots\dots 0,196$$

$$\text{D'où Cu}^s \text{ par différence} \dots\dots 0,10546$$

$$\text{Valeur de } \frac{\text{Cu}^T}{3} = 0,1004$$

Expérience N° 2.

$$\text{Cu}^T = 530 \times 0,0005688 = 0,3128$$

$$\text{Cu}^{\text{in}} = \dots\dots\dots 0,200$$

$$\text{D'où Cu}^s \text{ par différence} \dots\dots 0,1128$$

$$\text{Valeur de } \frac{\text{Cu}^T}{3} = 0,104$$

On voit donc très nettement que le cuivre s'est réparti très sensiblement de la façon suivante : deux parties à l'état insoluble ; une partie à l'état soluble, confirmant les égalités 5, 6, 7.

Essais de précipitation d'acide urique ou de décopulation par les acides.

Technique :

A 500 cc. de cette urine A, nous avons ajouté 10 cc. d'HCl pur ; après 48 heures, nous avons filtré et recueilli l'acide urique précipité que nous avons lavé, séché et pesé.

459 cc. de ce filtrat représentant donc 450 cc. d'urine primitive ont été additionnés de 126 cc. d'une solution saturée de $\text{CO}^3 \text{Na}^2$, et nous avons pratiqué sur ce liquide les mêmes dosages que précédemment : procédé Ducung en faisant des prises d'essai de 13 cc. qui correspondaient à 10 cc. d'urine primitive ; procédés Ludwig et cyanoargentimétrique sur 130 cc., soit 100 cc. d'urine A.

La même technique a été suivie pour la précipitation de l'acide urique par les acides sulfurique et phosphorique.

Précipitation de l'acide urique par HCl après 48 heures.

Acide urique initial	{	Procédé Ludwig ...	0,55
	}	Procédé Ducung ...	0,54
Acide urique précipité et pesé			0,43
Acide urique devant rester en solution			$(0,55 - 0,43) = 0,12$
Dosages : Procédé Ludwig			0,156
Procédé cyanoargentimétrique			0,147
Procédé Ducung			0,27
Cu^{T}		$= 270 \times 0,0005688$	$= 0,15376$
Cu^{in}		$= 1,3 \times 0,004 \times 10$	$= 0,052$
Cu^{s}			$\underline{0,10176}$
Acide urique primitivement contenu :			
$2 \text{ Cu}^{\text{s}} \times 2,645$		$= 2 \times 0,10176 \times 2,645$	$= 0,534$

Précipitation de l'acide urique par $\text{SO}^4 \text{ H}^2$ après 48 heures.

Acide urique initial $\left\{ \begin{array}{l} \text{Procédé Ludwig} \dots 0,55 \\ \text{Procédé Ducung} \dots 0,54 \end{array} \right.$

Acide urique précipité et pesé 0,35.

Acide urique devant rester en solution $(0,55 - 0,35) = 0,20$

Dosages : Procédé Ludwig 0,23
 Procédé cyanoargentimétrique 0,23
 Procédé Ducung 0,33

$$\text{CuT}^1 = 330 \times 0,0005688 = 0,187704$$

$$\text{Cu}^{\text{in}^1} = 2 \times 0,004 \times 10 = \underline{0,080}$$

$$\text{Cu}^s = \dots\dots\dots 0,107$$

Acide urique primitivement contenu :

$$2 \text{ Cu}^s \times 2,645 = 2 \times 0,107 \times 2,645 = 0,563$$

Précipitation de l'acide urique par $\text{PO}^4 \text{ H}^3$ après 4 jours.

Acide urique initial $\left\{ \begin{array}{l} \text{Procédé Ludwig} \dots 0,54 \\ \text{Procédé Ducung} \dots 0,55 \end{array} \right.$

Acide urique précipité et pesé 0,42.

Acide urique devant rester en solution $(0,55 - 0,42) = 0,13$

Dosages : Procédé Ludwig 0,14
 Procédé cyanoargentimétrique 0,11
 Procédé Ducung 0,26

$$\text{CuT}^1 = 260 \times 0,0005688 = 0,14788$$

$$\text{Cu}^{\text{in}^1} = 1,1 \times 0,004 \times 10 = \underline{0,044}$$

$$\text{Cu}^s = \dots\dots\dots 0,10388$$

Acide urique primitivement contenu :

$$2 \text{ Cu}^s \times 2,645 = 2 \times 0,10388 \times 2,645 = 0,5499$$

En résumé, les déterminations de Cu^{in} et de Cu^{s} nous donnent les quantités d'acide urique encore solubilisé dans l'urine et d'acide urique avant insolubilisation partielle et, si nous comparons les résultats ainsi fournis avec la méthode que nous avons choisie comme type, nous voyons qu'il y a concordance absolue.

Pour éviter les phénomènes d'auto-suggestion dans la pratique de ces dosages, les mêmes expériences ont été répétées sur une deuxième urine B, mais par trois expérimentateurs différents : la méthode cyanoargentimétrique a été faite par M. le Professeur Chelle ; les dosages de Ducung par M^{lle} Bègue, préparateur du laboratoire de chimie, et j'ai fait seul les dosages par le procédé Ludwig.

Les résultats obtenus ont été identiques ; nous les schématisons de la façon suivante :

	URINE A			URINE B			
	Ludwig	Par la détermination de Cu ⁱⁿ	Par la détermination de Cu ^s	Ludwig	Par la détermination de Cu ⁱⁿ	Par la détermination de Cu ^s	
Urine à l'émission.	0.55	0.54	0.55	0.63	0.60	0.60	
Urine après sédimentation par	H Cl . . .	0.15	0.14	0.534	0.12	0.11	0.60
	SO ⁴ H ² .	0.23	0.23	0.56	0.15	0.16	0.62
	PO ⁴ H ³ .	0.14	0.11	0.549	0.14	0.14	0.63

Ce tableau nous montre que la détermination de Cu^{in} et de Cu^{s} est très importante et nous permet de tirer les conclusions suivantes :

1° Lorsque les dosages par Cu^{in} et Cu^{s} sont concordants, c'est que tout l'acide urique est solubilisé ; l'urine est normale ;

2° Lorsque le dosage par Cu^s est plus fort, c'est qu'il y a eu décopulation ; une partie de l'acide urique a été insolubilisé, soit à l'état cristallin ou à l'état d'urates acides (1).

a) Dans le récipient qui contient l'urine à analyser et jusqu'ici il était impossible de fixer le médecin sur la quantité d'acide urique émis ; à la rigueur on pouvait peser l'acide urique déposé au fond du flacon et doser l'acide soluble, mais ce chiffre était entaché d'une erreur si la sédimentation s'était produite dans le vase du malade.

b) S'il n'y a pas de sable urique, c'est que la décopulation aura pu se faire *in vivo*, c'est le cas des calculs des arthritiques par exemple. Nous nous proposons de donner ultérieurement des résultats ;

3° Jamais Cu^s ne doit être inférieur à Cu^{in} .

On pourrait peut-être doser Cu^{in} plus simplement et avec moins d'urine. Prendre alors 10 cc. d'urine, y ajouter la quantité de réactif correspondante de Ducung, centrifuger. Le précipité lavé deux fois sera dissous dans un peu d'eau sulfurique et on appliquera à ce liquide le procédé de micro-dosage de Fontès. Dans une prochaine note, nous donnerons les résultats que nous avons trouvés.

Enfin, au lieu de doser Cu^{in} , on pourrait doser Cu^s . Voici la technique que nous proposons :

Détermination de Cu^s volumétriquement.

1° On détermine le nombre de centimètres cubes de liqueur cuivreuse qu'il faut ajouter à 10 cc. d'urine pour avoir une réaction de Ducung exacte, soit (a) ce nombre.

(1) Action des phosphates qui font double décomposition.

2° Mettre dans un petit flacon jaugé de 50 cc. : urine 25 cc., 3 cc. de CO_3Na^2 saturé, $2,5 \times a$ de solution de Ducung. Compléter le volume à 50 cc. Après dix minutes, la réaction est terminée ; on filtre.

3° Prendre 20 cc. du filtrat correspondant à 10 cc. d'urine primitive, les mettre dans un bécber. Ajouter 10 cc. d'iode N/10 dans le but de transformer l'hyposulfite en tétrathionate ; agiter ; ajouter 5 cc. de SO^4H^2 au demi, puis, après cinq minutes, ajouter q s d'ammoniaque pour saturer ces 5 cc. d'acide sulfurique au demi (1) et avoir un léger excès d'ammoniaque.

Ajouter alors 10 cc. de Cy K N/100.

Verser ensuite goutte à goutte de l'azotate d'argent N/100 jusqu'à opalescence, soit n cc.

Cu^s sera donné par l'égalité :

$$\text{Cu}^s = (10-n) \times 0,0004$$

On déduit ensuite l'acide urique avant décopulation :

$$\text{Acide urique} = 2 \text{ Cu}^s \times 2,645$$

Résultat obtenu en suivant cette technique dans une urine donnée :

Acide urique dosé par le Ducung : 0^{gr}45 par litre.

Cu^s contenu dans 10^{cc} d'urine additionnés de 4^{cc}5 de liqueur cuivreuse :

$$\text{Cu}^s = 2 \times 0,0004 = 0^{\text{gr}}0008$$

$$\text{Acide urique} = 2 \times 0,0008 \times 2,645 = 0^{\text{gr}}004232.$$

$$\text{Acide urique par litre} = 0^{\text{gr}}423.$$

Enfin nous avons imaginé un dosage colorimétrique en utilisant le réactif bromhydrique de Denigès. Pour cela, après avoir déterminé la quantité de réactif nécessaire pour saturer 10 cc. d'urine, on fait une réaction de Ducung

(1) Si pour saturer 5 cc. de SO^4H^2 1 il faut 10 cc. d'ammoniaque. On ajoutera $\frac{10+5}{2} = 15$ cc.

en ajoutant, aux 10 cc. d'urine, un volume d'eau pour faire 20 cc., et on filtre. Dans ces conditions, 2 cc. du filtrat correspondent à 1 cc. d'urine. Ces 2 cc. sont portés à l'ébullition dans un tube en pyrex avec 2 cc. 5 d'acide sulfurique pur et un petit cristal d'oxalate de potasse pour détruire la matière organique. On peut ainsi comparer la solution cuivrique traitée par le réactif avec une série d'étalons faits avec la solution A de Ducung. Nous avons abandonné cette méthode car les étalons obtenus en diluant le réactif dans l'acide sulfurique au demi ne se conservent pas.

Conclusion :

Jusqu'ici, il était impossible de fixer le médecin sur la quantité d'acide urique émis ; à la rigueur, on pouvait peser l'acide urique déposé au fond du flacon et doser l'acide soluble, mais ce chiffre était entaché d'erreur si la sédimentation s'était produite dans le vase du malade.

Notre procédé, au contraire, comble cette lacune.

CHAPITRE V

Essai d'isolement et de caractérisation de la molécule organique inconnue.

En vue de cet isolement, nous avons effectué de très nombreuses recherches dont nous ne donnons ici qu'un résumé succinct.

On effectue, dans une urine donnée, le dosage de l'acide urique par la méthode de Ducung et on détermine ainsi la quantité de réactif nécessaire pour produire la précipitation exacte de l'acide urique. A un litre de la même urine, on ajoute 100 cc. de la solution saturée de carbonate de soude et la quantité de réactif calculée ; on attend dix minutes et on filtre ; le composé inconnu de cuivre passe dans le filtratum. La quantité de cuivre ainsi solubilisée est toujours très faible, on peut s'en rendre compte par le calcul ; elle n'est, en effet, que de 0 gr. 09 environ pour une urine renfermant 0 gr. 50 d'acide urique par litre. La concentration du filtratum doit donc constituer le premier temps de l'opération.

On concentre la liqueur filtrée par évaporation à une douce température, aux environs de 50° ; à partir de 60°, en effet, l'hyposulfite de soude décompose le sel de cuivre pour donner du sulfure de cuivre noir qui précipite. Dans cette opération, les sels dissous se déposent en incrustant les parois de la capsule ; on arrête l'opération lorsque le volume obtenu est d'environ 100 cc.

Le liquide qui résulte ainsi de l'évaporation présente une teinte brun rougeâtre, un aspect visqueux, et contient

une grande quantité d'éléments divers en solution très concentrée et parmi lesquels on décèle facilement le cuivre par le réactif au ferrocyanure de potassium acétique.

En étudiant par la méthode du coefficient de partage la solubilité du composé de cuivre avec la solution précédente, on constate qu'il est insoluble dans tous les dissolvants usuels de laboratoire, en particulier dans l'alcool. Cette dernière propriété va nous permettre de nous débarrasser de l'urée.

Les 100 cc. provenant de l'évaporation sont décantés et traités par deux litres d'alcool à 95° dans un grand flacon en verre ; on agite fortement et on laisse reposer ; il se forme d'abord une phase liquide brun rougeâtre qui se prend en masse cristalline au bout de quelques instants. On attend une heure environ et on décante l'alcool qui s'est fortement coloré en jaune et qui contient une grande quantité d'urée. La masse cristalline est reprise par 50 cc. d'eau qui deviennent suffisants pour la dissoudre et on recommence la précipitation alcoolique dans les mêmes conditions que précédemment. L'alcool provenant de la décantation est à peine coloré en jaune et contient encore de l'urée. La masse cristalline est reprise par 50 cc. d'eau et fournit une solution brun rougeâtre, mobile, dont l'urée a disparu. Une troisième précipitation alcoolique est inutile ; à partir de cet instant, en effet, l'alcool ne dissout plus que de faibles quantités de la gangue saline ou organique qui agglomère le composé de cuivre.

La méthode des cristallisations successives ne permet pas d'isoler le corps qui nous intéresse ; quelles que soient les précautions prises, et en particulier la lenteur de l'évaporation de la solution précédente, il arrive un moment où tout se prend en masse et le triage des cristaux devient impossible.

Nous avons alors pensé à déféquer la liqueur en utilisant des agents susceptibles de donner avec les sels dissous des composés insolubles séparables par filtration et des

produits restant en solution aqueuse, mais solubles dans l'alcool. On conçoit ainsi qu'en poursuivant indéfiniment les précipitations alcooliques qu'il arrivera un moment où la masse cristalline sera constituée par le composé inconnu à peu près pur. Nous laisserons de côté les nombreuses expériences que nous avons faites dans ce but ; les sels que nous avons étudiés donnent en effet, par double décomposition, un précipité très volumineux qui retient énergiquement le cuivre par adsorption. Cependant le sous-acétate de plomb semble remplir les conditions désirables ; le précipité obtenu est encore très volumineux, mais la solution filtrée est colorée en bleu ciel et contient du cuivre associé à des produits solubles dans l'alcool. Si après avoir concentré la solution à 50 cc., la défécation ayant nécessité une dilution préalable, on effectue les précipitations alcooliques, il se produit bien un précipité floconneux, mais il ne contient plus de cuivre ; le composé inconnu s'est dissous avec les acétates alcalins dans l'alcool, dont il devient dès lors impossible à séparer.

Le composé organique de cuivre est coloré en bleu intense, la défécation au sous-acétate de plomb nous a permis de l'apercevoir ; l'acétate de cuivre qui aurait pu se produire par double décomposition, si toutefois le radical organique donne un sel de plomb insoluble, n'aurait pas une coloration aussi intense, étant donné la petite quantité de cuivre qui entre en jeu.

De plus, l'urine décolorée au noir animal, traitée par la quantité d'hyposulfite cuivreux nécessaire pour produire la précipitation totale de l'acide urique, laisse passer à la filtration un liquide coloré en bleu ciel. Malheureusement, dans cette réaction, le noir animal a fixé une assez forte proportion d'acide urique, mais il est malgré tout intéressant de constater que la coloration bleue précédente est identique à celle qui est mise en évidence par la défécation au sous-acétate de plomb.

Enfin, en observant attentivement une réaction de

Ducung effectuée sur un litre d'urine peu chargée en pigments colorants, lorsque la floculation de l'urate cuivreux est terminée, la liqueur surnageante prend une coloration verte, due à la superposition du bleu du sel de cuivre et du jaune du pigment.

Le composé inconnu, au moment où il prend naissance, est donc vraisemblablement un sel cuivrique. Signalons en outre qu'avec le temps les colorations précédentes s'atténuent fortement, l'urine reprend peu à peu une coloration jaune brunâtre et les solutions bleues se décolorent.

En présence des échecs que nous avons signalés très rapidement, nous avons alors pensé à la dialyse et nous avons mis à dialyser les 50 cc. de solution cuivrique désu-réisée en présence d'une assez grande quantité d'eau en utilisant une membrane de parchemin.

Dans ces conditions, au bout de quelques jours, l'eau contenue dans le vase extérieur est légèrement colorée en vert et ne contient presque que du cuivre et de l'hyposulfite de soude. En évaporant lentement cette solution, on obtient un mélange de cristaux d'hyposulfite de soude et de sel de cuivre cristallisé en fines aiguilles rayonnant autour d'un centre pour constituer ainsi dans le fond du cristallisoir une série de rosaces. On peut trier facilement les cristaux à la main et séparer le sel de cuivre de l'hyposulfite. On reprend le sel de cuivre par l'eau et on fait passer dans la solution obtenue un courant d'hydrogène sulfuré pour précipiter le cuivre. Par évaporation, on obtient encore des cristaux en rosace absolument identiques à ceux du sel de cuivre. Si on dissout les cristaux obtenus dans l'eau et si on traite par une quantité d'alcool à 95°, environ dix fois plus grande que le volume de la solution aqueuse, une phase liquide sous forme de traînées huileuses adhérentes au tube de verre prend naissance. Au bout de cinq minutes environ, on décante l'alcool qui abandonne lentement des aiguilles cristallines à peu près pures du composé qui était allié au cuivre.

En utilisant cette propriété, on peut supprimer la dialyse et extraire directement le produit de l'urine. L'urine, après avoir été traitée par le réactif, est concentrée et désuréisée comme précédemment. On traite les 50 cc. obtenus par l'hydrogène sulfuré et on filtre. Le filtratum est traité par un litre d'alcool dans un flacon en verre ; on agite ; une phase liquide complexe qui entraîne avec elle la matière colorante de l'urine prend naissance, on attend cinq minutes environ et l'alcool décanté abandonne au bout d'un certain temps des aiguilles cristallines du composé qui était allié au cuivre. Ces aiguilles ainsi obtenues donnent par évaporation de leur solution aqueuse des rosaces identiques à celles du composé isolé par la dialyse. On purifie par précipitations alcooliques successives.

Après avoir traité 10 litres d'urine dans les conditions indiquées, nous avons pu isoler environ 50 centigrammes de produit bien cristallisé.

Nous avons effectué la combustion sur 25 centigrammes et sur des parties aliquotes des réactions d'identification qui nous ont conduit à dire que ce produit devait être du tartrate neutre de sodium. Il nous a donné d'une façon intense la réaction de Mohler-Denigès.

Combustion du tartrate neutre de sodium $C^4 H^4 O^6 Na^2$

	Trouvé %	Calculé %
Carbone	18,38	18,66
Hydrogène	2,36	2,06
Carbonate de sodium	55,1	54,69

Le produit vert bien cristallisé, que nous avons isolé par la dialyse, n'était autre que du tartrate de cuivre et, en effet, il nous a donné une réaction de Mohler-Denigès positive, une belle coloration rouge violacé avec son spectre d'absorption caractéristique.

Le composé que nous avons isolé dans les conditions précédentes était donc une combinaison de cuivre et d'acide

tartrique, peu nous importe d'ailleurs sa formule exacte. Il est vraisemblable d'admettre qu'une double décomposition s'est effectuée dans le milieu et que le corps qui nous intéresse a disparu sous forme de sel de soude. Dès lors, la clef de la solution du problème nous échappe.

L'existence du sel de Seignette dans la préparation de la solution cuivreuse est-elle indispensable ? Les expériences que nous avons faites à ce sujet nous ont fourni les résultats suivants :

L'addition de sel de Seignette a pour but de stabiliser la solution d'hyposulfite cuivreux ; sous son action, en effet, la liqueur se conserve mieux et ne sédimente pas par le repos. Mais, on peut préparer une solution pure d'hyposulfite cuivreux sans tartrate de potassium et de sodium dont l'action sur l'urine est identique. Cependant, pour obtenir plus de précision et surtout pour gagner du temps, il vaut mieux déterminer la quantité d'hyposulfite cuivreux pur à ajouter à un litre d'urine par la méthode clinique de Ducung.

Des expériences sont en cours avec du réactif cuivreux dans lequel nous avons supprimé le sel de Seignette pour éviter la double décomposition signalée.

Si, par ce procédé, nous n'arrivons pas au résultat, car le milieu dans lequel nous poursuivons nos recherches est très complexe et mal défini, nous ne pouvons donc pas tout prévoir. Nous nous proposons d'étudier l'action des sels d'argent et des sels mercuriels sur le complexe urique et de voir si, dans la précipitation de l'urate d'argent ou de l'urate mercuriel, il ne naît pas dans une proportion définie un sel soluble qui se prête mieux aux recherches.

Cette action doit vraisemblablement se passer ainsi, car elle permet d'expliquer, par scission de la molécule de l'uréide et par un mécanisme identique à celui que nous avons indiqué pour le cuivre, la précipitation totale et immédiate d'urate insoluble bien mise à profit par la méthode de Salkowski-Ludwig et qui explique ainsi l'exactitude des résultats qu'elle fournit.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

1° Le procédé de dosage de l'acide urique de Ducung est le plus rapide et le plus clinique, il peut être mis entre toutes les mains.

2° Nous avons démontré que l'acide urique devait être éliminé sous forme d'uréide complexe. — Acide urique copulé.

3° Nous avons solutionné un problème jusqu'ici impossible à résoudre. Acide urique encore solubilisé. Acide urique réellement éliminé dans les urines à sable urique ou à urates acides.

4° Notre but n'a pas été tout à fait atteint, puisque nous n'avons pu déterminer la nature de la copule et, par suite, de l'uréide complexe, mais nous persévérons dans cette voie avec l'espoir prochain d'aboutir.

VU, BON A IMPRIMER :

Le Président,

L. CHELLE.

VU :

Le Doyen,

Dr C. SIGALAS.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Bordeaux, le 1^{er} Mars 1923.

Le Recteur de l'Académie,

F. DUMAS.

